

18.198

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGICAS

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA VEGETAL I



* 5 3 0 9 5 6 7 6 4 9 *

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

**SENSIBILIDAD VARIETAL EN CEREALES DE INVIERNO A
CLORTOLURON**

HORTENSIA SIXTO BLANCO



ARCHIVO

Director: D.José María García Baudín
Dr.Ingeniero Agrónomo

MADRID 1992

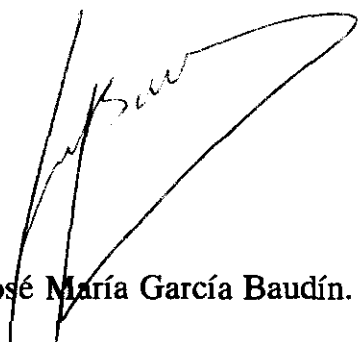
Trabajo presentado para optar al título de Dra. en Ciencias Biológicas por la
Universidad Complutense de Madrid.

El Doctorando



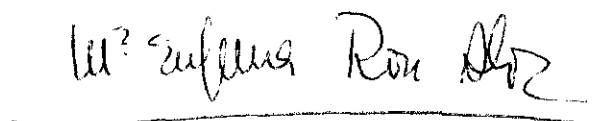
Fdo. Hortensia Sixto Blanco

Vº Bº del Director de la Tesis



Fdo. Dr. José María García Baudín.

Vº Bº del Tutor



Fdo. Dra. Mª Eugenia Ron Alvarez.

MADRID 1992

A mis padres

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo ha sido realizado en el Departamento de Protección Vegetal del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias (INIA), bajo la dirección del Dr. *José María García Baudín*, jefe del citado departamento, a quien deseo expresar mi más sincero agradecimiento.

Asímismo quiero agradecer a la Dra. *M^a Eugenia Ron Alvarez*, Catedrática de Botánica de la Facultad de C. Biológicas de la Universidad Complutense de Madrid, haber aceptado la tutoría de esta memoria así como su inestimable colaboración en todo momento.

Igualmente agradezco a la Dra. *Cristina Chueca* y a el Dr. *Luis Silvela* su constante asesoramiento científico en los estudios de herencia de la presente memoria.

Al Dr. *José Luis Tadeo* y a *M^a Teresa Matienzo* quiero agradecer su inestimable ayuda en la obtención de los registros cromatográficos, así como a la Dra. *Antonieta Cal* su asesoramiento en técnicas de ordenador.

Agradezco también a todos mis compañeros del Laboratorio de Malherbología su colaboración a lo largo de estos años.

INDICE

CAPITULO 1: INTRODUCCION

pag.

1.1. Los Cereales en la agricultura.....	1
1.2. Las Malas Hierbas en Cereales.....	4
1.3. Generalidades de Herbicidas.....	8
1.4. Derivados de la urea.....	17
1.5. Selectividad Varietal.....	24

OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO.....	30
---	-----------

CAPITULO 2: MATERIALES Y METODOS

MATERIALES

2.1.Material biológico.....	32
2.2.Aparatos empleados.....	32
2.3.Herbicidas.....	34
2.4.Reactivos.....	34
2.5.Otros.....	35

METODOS

2.6.Ensayos en planta entera.....	37
2.6.1.Crecimiento en vasos.....	37.
2.6.2.Crecimientos en tubos.....	39
2.7.Fluorescencia clorofílica.....	40
2.7.1.Fases lentas.....	45
2.7.2.Fases rápidas.....	48
2.8.Cromatografía de gases.....	50
2.9.Cultivo de plantas a cruzar.....	52
2.9.1.Cruzamientos.....	53
2.9.2.Polinización.....	54

CAPITULO 3: Respuesta fotosintética de los principales cultivares de trigo, cebada y triticales, a derivados de la urea.

3.1.Introducción.....	55
3.2.Material y Métodos.....	56
3.3.Resultados y Discusión.....	57

CAPITULO 4:Respuesta en planta entera.

4.1 Introducción.....	93
-----------------------	----

4.2. Material y Métodos.....	95
4.3. Resultados y Discusión.....	97

CAPITULO 5: Actividad fotosintética mediante la evaluación de la fase rápida I→P.

5.1. Introducción.....	105
5.2. Material y Métodos.....	107
5.3. Resultados y Discusión.....	109

CAPITULO 6: Determinación de niveles de herbicida.

6.1. Introducción.....	116
6.2. Materiales y Métodos.....	118
6.3. Resultados y Discusión.....	119

CAPITULO 7: Estudio de la herencia de la tolerancia a clortolurón.

7.1. Introducción.....	128
7.2. Material y Métodos.....	133
7.3. Resultados.....	135

7.4. Discusión.....	140
CONCLUSIONES GENERALES.....	154
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	160
ANEXOS.....	188

CAPITULO 1 : INTRODUCCION

1.1. LOS CEREALES EN LA AGRICULTURA

La familia *Poaceae* es una de las más importantes no sólo por el elevado número de especies que contiene, sino también por la importancia económica de algunas de ellas. Comprende todas las especies cultivadas de cereales, clasificadas en tribus y géneros.

Tribu <i>Triticeae</i> Dumort.	G. <i>Triticum</i> L.
	G. <i>Secale</i> L.
	G. <i>Hordeum</i> L.
Tribu <i>Aveneae</i> Dumort.	G. <i>Avena</i> L.
Tribu <i>Oryzeae</i> Dumort.	G. <i>Oryza</i> L.
Tribu <i>Andropogoneae</i> Dumort.	G. <i>Zea</i> L.
	G. <i>Sorghum</i> Moench

La tribu *Triticeae* Dumort., contiene cuarenta y seis géneros diferentes, con 7 como número básico de cromosomas y se caracterizan por la presencia de una inflorescencia en espiga con espiguillas comprimidas lateralmente con dos glumas (Tutin et al. 1980) presentando numerosas flores fértiles por espiguilla.

Dos de las especies más importantes del género *Triticum* desde el punto de vista agrícola son, según Morris and Sears (1967):

Triticum aestivum L. (conocido como trigo harinero)

Triticum turgidum L. *var. durum* Desf. (conocido como trigo duro)

En el género *Hordeum* se incluye la especie *Hordeum vulgare* L. (cebada), siendo la que mayor interés agronómico presenta. Su inflorescencia es una espiga, al igual que en el trigo, pero presentando ésta tres espiguillas por articulación del raquis con una sola flor fértil por espiga.

El reciente cereal *Triticale*, síntesis anfiploide de *Triticum* x *Secale*, presenta un elevado contenido de proteínas en grano lo que le confiere gran utilidad como cereal pienso (Sánchez Monge 1974). La primera planta híbrida se obtuvo en 1875 por Wilson, si bien fue Rimpau en 1888 quien consiguió obtener las primeras espigas fértiles (Gregory 1987).

Evidencias arqueológicas apuntan que el cultivo de los cereales se conoce desde hace 8000 años (Helbaek 1969). Su evolución se hace notoria, sin embargo, a partir de los años 60 de nuestro siglo, coincidiendo con un mejor manejo de la agricultura, que se ve influenciado por la modernización en la mecanización, el control más eficiente de las plagas y el uso más racional de los fertilizantes.

Si bien estos factores no deben olvidarse, hay que considerar también el papel relevante que han jugado los programas de mejora, implantados científicamente en la

primera mitad del siglo XIX en Gran Bretaña, en cuanto a la obtención de nuevas variedades, cada vez con mejores calidades encaminadas a la mayor producción y a la mejor resistencia a las diferentes plagas, de tal forma que se estima que al menos la mitad del incremento de su producción se debe a su introducción (Bingham y Lupton, 1987).

Desde el punto de vista agrícola, el cultivo de los cereales constituye el cultivo base empleado en alimentación (Inglett 1974), consumiéndose bajo diferentes formas por más de 1000 millones de personas y contribuyendo, como ningún otro, al aporte de proteínas y calorías (FAO 1970).

Los principales países productores de cereales se localizan en zonas templadas de ambos hemisferios, en regiones de meseta y llanura cuya vegetación natural es la pradera o la estepa. Su importancia, tanto social como económica, se basa en la gran extensión que ocupan, que supone el 16% de la superficie agrícola útil (Lopez-Bellido 1991), así como en las dificultades para establecer otro tipo de cultivos en estas zonas.

La Comunidad Económica Europea cultiva del orden de 35,5 millones de hectáreas de cereales, lo que representa aproximadamente el 27,5% de la superficie agrícola útil, siendo el trigo harinero, la cebada y el maíz los cereales prioritarios.

En cuanto a superficie cultivada, España es el segundo país de la CEE después de Francia, (7881 miles de Ha. de cereales totales), si bien somos el cuarto país productor, por detrás de Francia, Alemania y el Reino Unido (ANON 1989).

1.2 LAS MALAS HIERBAS EN CEREALES

Muchos son los problemas que se presentan en el cultivo de los cereales trigo y cebada, siendo uno de los más importantes el producido por la presencia de malas hierbas que compiten con el cultivo reduciendo así su producción.

Desde un punto de vista botánico, el término "mala hierba" no existe, sin embargo este concepto ha sido introducido por el hombre ante la necesidad de definir una planta que crece en un lugar no deseado, y ha sido considerado un término relativo ya que una especie cultivada puede comportarse como mala hierba al año siguiente, cuando el terreno se remplaza con otro cultivo (Detroux y Gostinchar, 1965).

Han sido múltiples las definiciones sobre este concepto a lo largo del tiempo, así Brenchley (1920) define el término como "plantas que crecen de forma tan abundante que ahogan a otras que poseen mayor valor nutritivo". Bailey y Bailey (1941) se refieren a ellas como "plantas no deseables y que merecen ser destruidas", o Moore (1954) como "plantas que interfieren con la utilización que hace el hombre de un campo para su provecho". El Comité de la Sociedad Americana de Malas Hierbas define el término como "plantas que crecen en un lugar no deseado" (Shaw 1956). En definitiva se trata de especies vegetales que crecen en un lugar y en un momento no adecuado para las necesidades del hombre.

Entre las malas hierbas que invaden el cultivo de los cereales se encuentran diferentes dicotiledóneas anuales, como algunas especies pertenecientes al género *Papaver* o diferentes especies de crucíferas, como *Diploaxis muralis* D.C., *Raphanus*

raphanistrum L. o *Sinapis arvensis* L. , entre otras. Este tipo de flora ha sufrido un descenso considerable, debido a la aplicación de herbicidas fenoxiácidos frente a los que muestran sensibilidad.

Otras especies de dicotiledóneas, poco sensibles a estos herbicidas, que invaden los cultivos de trigo y cebada son anuales como *Galium aparine* L., *Veronica hederaefolia* L., *Matricaria chamomilla* L. etc., o perennes como *Convolvulus arvensis* L. o *Cirsium arvense* Scop.

La evolución de las técnicas culturales tales como laboreo, abonado, técnicas de recolección etc. y en particular el empleo indiscriminado durante años de herbicidas fenoxiácidos, ha provocado una inversión de la flora adventicia en estos cultivos hacia gramíneas, cuya proximidad fisiológica y morfológica con el cultivo dificulta aún más su control.

Las malas hierbas gramíneas más importantes en estos cultivos son especies de los géneros *Avena*, *Lolium* y *Phalaris*, si bien los géneros *Bromus* y *Alopecurus* también se mencionan (García-Baudín, 1984).

La infestación provocada por especies del género *Avena*, (avenas locas), oscila en torno al 20% en estos cultivos, siendo además infestaciones muy homogéneas en todas las zonas cerealísticas de nuestro país (García-Baudín 1982a). La especie predominante es *Avena sterilis* L., presente en cultivos de todo el territorio, estando la especie *Avena fatua* L. restringida a zonas de la Región del Duero, norte de la Región Central y Cataluña (García-Baudín y Salto, 1979).

El género *Lolium*, (vallicos), le sigue en importancia, infestando alrededor del 10% de la superficie de trigos y cebadas (García-Baudín 1982b). Son abundantes en el centro y norte del país, escaseando en los cultivos de Andalucía y La Mancha, siendo *Lolium rigidum* L. la especie predominante (Lansac y García-Baudín, 1982).

Las especies de *Phalaris* (alpistes) , que se encuentran representadas como malas hierbas, son *Phalaris brachystachys* Link, *Phalaris minor* Retz y *Phalaris paradoxa* L., si bien las dos primeras son las de mayor importancia (García-Baudín et al. 1982).

Alopecurus myosuroides Huds., (cola de zorro), adventicia en trigo y cebada, es abundante en la zona norte de Navarra (Esparza 1983), norte de Cataluña (García-Baudín y Perez Marsá, 1982) y esporadicamente en la Región del Duero (García-Baudín 1983).

Recientemente, especies del género *Bromus* (bromos) consideradas como ruderales comienzan a estar presentes en estos cultivos, viéndose favorecida la invasión por su ausencia de dormición (Froud et al. 1980; Harradine 1986), así como por la reducción en el laboreo, lo que le resulta ventajoso por poseer facilidad para germinar en superficie. *B.diandrus* Roth., especie adventicia dominante en nuestro país (García Baudín 1984), no es citada en estos cultivos en otros países Europeos aunque si en zonas tan alejadas como Sudáfrica (Wells and Stirton, 1982) o Australia (Green 1981). Otra de las especies presentes es *B.tectorum* L., muy abundante en Estados Unidos (Peeper 1984), aunque escasa en nuestro país (García-Baudín 1984).

En la actualidad el método más eficaz para el control de las malas hierbas gramíneas en cereales, es la utilización de herbicidas selectivos en estos cultivos, estando registrados para su utilización, (Liñan 1992):

- Fenoxaprop etil y Diclofopmetil , (Fenoxipropiónicos)¹
- Metilflamprop e Isoflamprop , (Anilidas)
- Terbutrina, Metribuzina y Cianazina, (Triazinas)
- Trialato y Prosulfocarb, (Tiocarbamatos)
- Pendimetalina, (Nitroanilinas)
- Clortolurón, Isoproturón, Metoxurón y Metabenzotiazurón, (Derivados de la urea)
- Imazametabenz, (Imidazolinonas)
- Nitrofenol, Bentazona, Difenzoquat y Tralkoxydín, (No clasificados)

¹ Clasificación segun Kirkwood, (1987).

1.3 GENERALIDADES DE HERBICIDAS

El uso de los productos químicos para el control de la vegetación, es empleado hace siglos. Existen citas en la historia que hacen referencia al empleo de la sal como forma de evitar que creciera la vegetación, que se remontan al final de la 3° Guerra Púnica, así como también, en algunos manuales antiguos de Agricultura, se hace referencia a las cenizas y a los residuos de fundición con el mismo propósito.

Como consecuencia del avance de las Ciencias Químicas en el siglo XIX, se comprobó que algunos productos químicos podían tener aplicaciones útiles en agricultura (Robbins et al. 1955) y así hacia 1897 investigadores como Bonnet en Francia, Bolley en Estados Unidos y Schutz en Alemania, comprobaron en trabajos realizados independientemente, que las soluciones de sales cúpricas eliminaban hierbas de hoja ancha en cultivos de cereales sin apenas daño para éstos.

Las soluciones de nitrato sódico, sulfato amónico y sales de potasio, revelaron su efecto herbicida hacia 1900 y muy pronto comenzaron a emplearse en cereales. Bolley (1908) combatió malas hierbas en trigos con el empleo de arsenito sódico, así como Morettini en Italia (1915), Rabate en Francia (1926) y Korsmo en Noruega (1932), comprobaron que las pulverizaciones con sulfato de cobre, sulfato de hierro y ácido sulfúrico, controlaban selectivamente las hierbas de hoja ancha, produciendo aumentos en el rendimiento del cultivo que llegaron a ser del orden del 25%.

Durante el decenio 1915-1925, son otros los productos que se incorporan a la

lista para la lucha contra las malas hierbas, como son el sulfuro de carbono y el clorato de sodio.

Puede decirse sin embargo, que la historia moderna de los herbicidas comienza en 1941 cuando en Estados Unidos, Pokorny, comunica la síntesis química del ácido 2,4-diclorofenoxiacético, (2,4-D), y un año más tarde, Zimmerman y Hitchcock describen la actividad reguladora del crecimiento en plantas con este producto (Worthing and Phil, 1979). Es a partir de este espectacular éxito cuando el número de productos herbicidas crece en progresión geométrica (King 1966).

Como consecuencia de todo ello, en 1952 se fundó en Inglaterra la "Weed Control Joint Committee", así como en Estados Unidos se crea la sociedad "Weed Society of America" en el año 56 y en 1960 aparece la "European Weed Research Council", sociedades todas ellas encaminadas a fomentar el estudio de las malas hierbas y sus métodos de control.

En España, con anterioridad a la introducción del 2,4-D en el año 1948, el uso de productos químicos para el control de las malas hierbas era muy limitado, siendo el clorato de sodio el primer herbicida inscrito en el Registro Oficial Central de Productos y Material Fitosanitario de la Dirección General de Agricultura, el 22 de Septiembre de 1943.

La introducción del 2,4-D y otros herbicidas fenoxiácidos influyó sustancialmente en la expansión de estos productos, sin embargo su empleo no se puede considerar a gran escala hasta la década de los años 60, sufriendo un retraso

respecto al resto de Europa basado en factores de toda índole, entre los que se pueden citar el bajo coste de la mano de obra en España, la mentalidad conservadora del agricultor, así como los basados en la dificultad de experimentación, la diferente climatología, dificultad en la obtención de los productos etc., factores que en alguna medida se comienzan a modificar a partir de los años 60.

Así el gasto en productos fitosanitarios pasó a ser del orden de 3.642.000 ptas en 1970 a 18.415.000 ptas en 1980, alcanzándose los 19.905.702 ptas en 1990 (AEPLA 1991); correspondiendo a herbicidas el 30,6% del gasto total de fitosanitarios en el año 1990.

En respuesta a la necesidad de un control eficiente de las poblaciones de malas hierbas en un cultivo, surge una extensa gama de productos encaminados a tal fin, los herbicidas, que actuando bajo condiciones determinadas de dosis , momento de aplicación etc., pueden ejercer su control inhibiendo o alterando el crecimiento del vegetal, interfiriendo y malogrando su germinación o destruyendo la planta totalmente.

Como consecuencia de la proliferación del número de herbicidas existentes en el mercado y de la gran diversidad de sus propiedades, se hace necesario establecer sistemas de clasificación que ofrezcan información útil de sus características principales.

Los sistemas de clasificación encaminados a establecer grupos según su aplicación agrícola, resultan poco satisfactorios e incluso confusos, debido a que muchos de los herbicidas no pueden ser incluidos en un único grupo, y de agruparse

herbicidas muy heterogéneos en cuanto a otras de sus propiedades. Así, el sistema de clasificación que atiende a la estructura química es hoy por hoy el más extendido a pesar de considerarse un método clasificatorio más racional el que atendiera al modo de acción del herbicida, sistema todavía inviable por la falta de conocimientos sobre la bioquímica de los herbicidas en muchos de los casos.

Los principales sistemas de clasificación son:

1. Según la fitotoxicidad del herbicida.
2. Según su forma de actuación.
3. Según su vía de penetración.
4. Según el momento de aplicación.
5. Según la estructura química.

Los herbicidas actúan en las plantas interfiriendo una o varias funciones fisiológicas que aseguran su normal desarrollo. La absorción y translocación del producto, son procesos fundamentales para que se alcance el lugar donde deben actuar. Ambos procesos van a depender de la configuración de la molécula, de las características de la planta y de las condiciones medioambientales.

Dos son las principales vías de absorción de los herbicidas:

1) Absorción foliar- Cuando los herbicidas se aplican sobre partes verdes de la planta. La retención del producto por los órganos aéreos determinará la cantidad máxima de herbicida susceptible de penetrar, y ello dependerá tanto de la morfología de la planta como de las características de la pulverización.

Antes de alcanzar el simplasto, el herbicida tiene que atravesar cutícula, pared y plasmalema. La cutícula es *relativamente impermeable al agua*, por lo que resulta fácil de ser atravesada por la mayor parte de los herbicidas que son liposolubles. Esta difusión dependerá por tanto de las características físico-químicas del herbicida, así como de la composición química de la cutícula.

El paso del herbicida a través de la pared celular requiere que éste sea parcialmente soluble en agua, por tanto, para atravesar cutícula y pared se requiere que el herbicida sea a la vez liposoluble e hidrosoluble. La relación entre estas dos propiedades se conoce como "coeficiente de reparto"; así, si el coeficiente es alto, el herbicida quedará retenido en la cutícula, siendo más fácil su absorción cuando el coeficiente disminuye.

2) Absorción radicular- Cuando el herbicida se aplica al suelo, puede penetrar en la semilla, por la base de los tallos o, lo que es más frecuente, ser absorbido por la raíz.

La raíz presenta las mismas barreras para la absorción que las hojas, cutícula, pared y membrana plasmática. Sin embargo, la "banda de Caspary", formada por las paredes parcialmente suberificadas de la endodermis, constituye una barrera adicional. Se han propuesto distintas vías de penetración de los herbicidas por las raíces:

1. Vía Apoplasto: Parece ser la menos probable, ya que implica el paso del herbicida a través de la pared celular y de la banda de Caspary para su entrada en el xilema.
2. Vía Simplasto: El herbicida pasa al protoplasto atravesando la pared celular, llegando al floema a través de los plasmodesmos.
3. Vía Apoplasto-Simplasto: Es semejante a la vía simplástica, si bien el herbicida

después de atravesar la banda de Caspary, a través de los plasmodesmos, atraviesa la pared celular para alcanzar el xilema.

La principal zona de absorción en las raíces está comprendida entre 5 y 50 mm del ápice, caracterizándose esta zona por presentar un xilema lo suficientemente diferenciado para ser funcional y una endodermis no lo suficientemente suberificada para suponer una seria barrera a la penetración.

Los herbicidas, una vez absorbidos, deben translocarse para alcanzar el lugar de acción, con la excepción de los herbicidas de contacto como DNOC, Paraquat, Ioxynil etc., que ejercen su acción de forma muy rápida después de ser aplicados, destruyendo las células que tocan y desorganizando los tejidos.

Los diferentes transportes observados son:

A) Por el xilema: Los herbicidas son transportados por el xilema a través del flujo de transpiración, acumulándose en la periferia de las hojas en dicotiledóneas o en el ápice en las gramíneas. Este tipo de transporte es el descrito para derivados de la urea, triazinas y carbamatos entre otros, todas ellas moléculas liposolubles y no iónicas que atraviesan la membrana citoplásmica de forma pasiva.

B) Por el floema: Después de su aplicación foliar, los herbicidas se desplazan a los meristemos apicales y hacia las hojas más jóvenes, lo que sugiere un transporte a través del floema junto con los asimilados.

En general, el transporte de los herbicidas dependerá de la permeabilidad de la membrana citoplásmica, del flujo entre apoplasto y simplasto y de la posible

inmovilización de los herbicidas en algún constituyente de la planta.

Puesto que los herbicidas afectan tanto a malas hierbas como a plantas de interés agrícola, es de gran importancia el conocimiento de los efectos que éstos producen sobre los vegetales. Los herbicidas pueden interferir tanto en el metabolismo básico, como en el secundario o intermedio (Fedtke 1982), siendo probable, como apunta Moreland (1967), que el efecto herbicida total involucre más de un sitio metabólico, y mientras a concentraciones bajas puede verse afectada una sola reacción o una más que otras, a altas concentraciones son muchos los procesos que se pueden modificar (Ashton et al. 1977).

En general, los principales procesos metabólicos que pueden verse alterados son:

Fotosíntesis: Este proceso se ve alterado por más de la mitad de las estructuras herbicidas conocidas (Van Rensen 1982). Herbicidas tan importantes como derivados de la urea, anilinas, triazinas, triazinonas, uracilos, piridazinonas, hidroxibenzonitrilos, nitrofenoles y benzimidazoles, inhiben el transporte de electrones a nivel del fotosistema II. Otros grupos como bupiridilos y el difenzoquat aceptan electrones del fotosistema I, interfiriendo así en el transporte (Ashton y Craft, 1981).

Respiración: Muchos herbicidas son capaces de inhibir o desacoplar la fosforilación oxidativa, siendo los más notables los fenoles y benzonitrilos (Ashton y Craft, 1981).

Crecimiento: Herbicidas como los ácidos fenoxialcanoicos, benzoicos y picolínicos, actúan sobre el crecimiento de la planta, ejerciendo acción hormonal y provocando por

tanto aberraciones morfológicas. Otros grupos tales como carbamatos, tiocarbamatos, dinitroanilinas, amidas y derivados del ácido propiónico retardan o inhiben el crecimiento de tallos y de raíces, afectando procesos como la división celular, inhibición de la elongación celular o inhibición de la síntesis proteica (Asthon y Craft, 1981).

Los herbicidas en las plantas pueden sufrir transformaciones que conduzcan a compuestos más activos que los aplicados, o lo que es más frecuente, a compuestos inactivos, constituyendo estas transformaciones metabólicas una de las bases primarias de la toxicidad selectiva de los herbicidas en diferentes especies (Gaillardon y Gauvrit, 1981).

Procesos como la degradación de la cadena lateral, hidroxilación del anillo aromático o conjugación con constituyentes de la planta son frecuentes en herbicidas fenoxialcanoicos. La conjugación con péptidos, N-desalquilación o hidroxilación del anillo aromático son posibles en familias como las triazinas, mientras que el grupo de los derivados de la urea presenta como vías de transformación la desmetoxilación, desmetilación, hidroxilación o conjugación con proteínas y péptidos (Aubrey 1976).

Los factores medioambientales juegan un importante papel en la acción de los herbicidas. El suelo es uno de estos factores relevantes cuando el herbicida se aplica a través de él para ser absorbido vía radicular. La disponibilidad de herbicida en el suelo dependerá de su solubilidad, de su persistencia así como de la pluviometría, de la porosidad del suelo, de la adsorción herbicida/suelo entre otros, como también de las prácticas culturales (García-Baudín y Cadahia, 1987).

El clima influye también en la disponibilidad, el transporte y la degradación de los herbicidas, siendo la temperatura, humedad e intensidad luminosa los más importantes (García-Baudín y Cadahia, 1987).

1.4. DERIVADOS DE LA UREA

Los herbicidas derivados de la urea pertenecen al grupo de herbicidas orgánicos de síntesis, siendo su modo de acción primario el bloqueo del proceso fotosintético.

Comenzaron a sintetizarse en la década de los años 50 con la aparición del *Diuron*, que debido a su potencia inhibitoria, ha hecho de él una herramienta muy útil para fisiólogos y bioquímicos a la hora de estudiar este proceso.

Bucha y Todd (1951) describieron las propiedades herbicidas del *Monurón* y fue a partir de este momento, cuando se sucedieron la síntesis de compuestos que resultan de la sustitución de 2 ó 3 hidrógenos de la urea ($R_1HN-CO-NR_2R_3$) por radicales orgánicos, siendo el grupo más abundante aquel que se obtiene de la sustitución de un radical por un grupo fenil, dando origen a las fenilureas.

La introducción de los herbicidas objeto de nuestro estudio, metoxurón, clortolurón e isoproturón, se realizó en los años 1968, 1969 y 1970, respectivamente, (Artacho et al. 1978).

La penetración en la planta se realiza preferentemente por vía radicular, translocándose por el xilema a través del flujo de transpiración (Geissbüler et al. 1975; Asthon y Craft, 1981). No obstante, algunos de ellos presentan cierta facilidad para ser absorbidos foliarmente (Blair 1978), alcanzando el lugar de acción en cantidad suficiente para ocasionar daños.

En general son compuestos de baja solubilidad en agua, con tendencia a ser adsorbidos por la materia coloidal del suelo, lo que les confiere cierta persistencia en el terreno, así como una tendencia a acumularse en las capas superficiales.

Se emplean para el control de malas hierbas dicotiledóneas anuales y gramíneas en un amplio número de cultivos, variando su uso de un compuesto a otro.

Lugar de acción

Como ya hemos mencionado, los derivados de la urea son, potentes inhibidores de la fotosíntesis, produciéndose dicha inhibición por la interrupción del transporte de electrones a nivel del PSII (Moreland 1980), por lo que la localización exacta del sitio de bloqueo ha estado estrechamente ligada a las investigaciones sobre el funcionamiento del PSII.

En la cadena transportadora de electrones existen dos aceptores en serie denominados Q_a y Q_b . Los inhibidores tipo DCMU compiten con la plastoquinona en la captación de un e^- a nivel de Q_b (Velthuys 1981). En (1982) Lavergue lo confirmó, demostrando que la velocidad de acción del DCMU (Diurón) era más lenta en el estado Q_b^- que en el estado Q_b , mediante variaciones en el rendimiento de la fluorescencia clorofílica, evidenciándose más tarde de manera directa por la disminución en la fijación de DCMU marcado, en el estado Q_b^- .

En 1965, Izawa y Good, evidenciaron que el DCMU se fijaba de manera reversible al sitio de acción, existiendo desplazamientos competitivos entre todos los inhibidores de este tipo, sugiriéndose así un único sitio de unión para todos ellos.

La aparición de poblaciones resistentes a herbicidas del grupo de las triazinas, en donde la falta de actividad de estas iba acompañada de la pérdida de afinidad por el sitio de unión, sin que la fijación del DCMU se viera afectada, entraba en contradicción con la capacidad de los inhibidores de desplazarse competitivamente.

Ducruet considera, en su revisión de 1991, tres tipos de explicaciones para estos comportamientos;

1. Que existan sitios diferentes de unión sobre cadenas polipépticas diferentes, que interaccionan fuertemente una con otra. (Dicha hipótesis está hoy prácticamente abandonada)
2. Que existan sitios de unión solapados, de tal forma que haya una parte común que haga imposible la fijación simultánea de dos inhibidores y una parte específica para cada inhibidor, susceptible de sufrir mutaciones que ocasionaran resistencias específicas.
3. Que exista un único sitio de fijación, si bien una mutación que modifique su geometría o la de uno de sus componentes, pueda afectar de forma distinta a la fijación de los diferentes inhibidores.

Estudios realizados con tratamiento de tripsina sobre cloroplastos, unidos a técnicas de marcaje, han llevado a caracterizar dos polipéptidos en el sitio de unión del herbicida, una de 32KD para los inhibidores clásicos del PSII y otra de 41 KD en el caso de los fenoles. La proteína blanco de los herbicidas inhibidores del PSII ha sido

identificada como una subunidad del polipéptido D-1 del PSII. Su síntesis, que depende de un gen portado por el DNA cloroplástico (gen *psbA*), es activada por la luz con un posible papel del fitocromo (Ducruet 1991).

La purificación de la proteína no ha sido realizada hasta el momento, si bien según Zurawsky et al. (1982), su estructura primaria, deducible de la secuencia del gen cloroplástico, presenta una alternancia de encadenamiento de aminoácidos hidrófilos e hidrófobos que permiten concebir su estructura.

Las expresiones B, proteína Q_b , proteína de 32KD, proteína de unión del herbicida o proteína D1, que aparecen en la literatura, se consideran equivalentes, si bien es la última la que tiende a convertirse en regla (Ducruet 1991).

La proteína D-1 es homóloga a otra denominada D-2, que es codificada por el gen *psbD* (Rochaix et al. 1984; Alt et al. 1984). En estudios llevados a cabo con bacteria púrpura, se ha sugerido que el polipéptido D-1 no es sólo la proteína de unión al PSII, sino que conjuntamente con el polipéptido D-2, forman un centro de reacción (Deisenhofer et al.1985). Ambos polipéptidos unen el centro de reacción P680 con dos clorofilas monoméricas, dos feofitinas y hierro. Además dos plastoquinonas, Q_a y Q_b , se unen respectivamente a la proteína D-2 y D-1 (Treest 1991).

Efectos producidos por herbicidas inhibidores del PSII

En plantas tratadas con este tipo de herbicidas, se observan amarilleamientos en las venas de las hojas y síntomas necróticos en los márgenes de dicotiledóneas o en el ápice de las gramíneas. Ello se explica, según Fedtke (1982), por el patrón de

distribución del herbicida después de su aplicación radicular. Cuando el herbicida actúa rápidamente y su concentración es elevada, los síntomas se presentan en los márgenes o en el ápice, donde la tasa de fotosíntesis es más elevada. Si su actuación es lenta y en concentración baja, el efecto se visualiza en las venas.

Estos efectos no se producen por la carencia de hidratos de carbono en la célula, ya que un aporte externo de estos azúcares retrasa los efectos tóxicos pero no impide el daño cuando la hoja del vegetal es ya madura (Davis 1966). Aunque no se conoce con exactitud el origen de tales efectos, fenómenos tales como la acumulación de nitritos en la planta, motivada por la imposibilidad de ser reducidos al estar bloqueada la reducción fotosintética de la ferredoxina, pueden estar implicados.

El exceso de energía provocado por la interrupción del transporte de e^- , tiende a ser disipado en parte como emisión de fluorescencia. Sin embargo, otra posible vía es la cesión de la energía al oxígeno, con la consecuente formación de oxígeno singlete, que en condiciones normales, forma un complejo con β -carotenos (Witt 1971). En cantidades excesivas puede llegar a oxidar ácidos grasos, pigmentos y otros componentes de membrana.

Igualmente la clorofila puede pasar a estado radical iniciando la cadena oxidativa de ácidos grasos, proceso que es autocatalítico, ya que éstos pueden a su vez extraer electrones de otros ácidos grasos no saturados.

El efecto de "enverdecimiento" y la "adaptación tipo sombra" ha sido descrita para herbicidas derivados de la urea tales como monurón (Dicks 1978),

metabenzotiazurón (Fedtke 1979) y diurón (Meier et al. 1980) entre otros. Estos efectos, que se conocen como " efectos fisiológicos", son consecuencia de cambios profundos en el metabolismo del nitrógeno y en los cloroplastos. Fedtke (1982), propone que estos efectos se deban a respuestas reguladoras causadas por la baja tasa de fotosíntesis y la disminución de carbohidratos, en plantas tratadas con estos herbicidas.

Factores medioambientales que influyen en la fitotoxicidad

La temperatura posee una relación directa con la germinación de las semillas, así como con la tasa de crecimiento del vegetal, estando a su vez relacionado con la tasa de absorción del herbicida.

Muzik (1976), afirmó que la transpiración era un factor esencial para la absorción de herbicidas aplicados vía radicular, observándose que una tasa de transpiración alta generalmente acarrea una absorción elevada (Van Oorschot 1970).

Temperatura, humedad e iluminación poseen un efecto directo sobre la presión de vapor en la superficie de la hoja y en la apertura estomática, influyendo por tanto en la tasa de transpiración.

La intensidad luminosa elevada favorece la aparición de síntomas fitotóxicos en plantas tratadas con estos herbicidas (Pallet y Dodge, 1980; Van Oorschot y Van Leeuwen, 1974). Consecuencia directa de ello es la más baja dosis de aplicación de estos

herbicidas en países meridionales; alcanzándose una mayor toxicidad cuando las plantas son iluminadas con baja intensidad de luz antes de la aplicación del herbicida, y alta despues de esta (Van Oorscht y Van Leeuwen, 1974).

Principales mecanismos de degradación de ureas en plantas

a) **Desmetilación:** La pérdida de los dos grupos metil, en dos pasos sucesivos, conduce a un metabolito didesmetilado no fitotóxico.

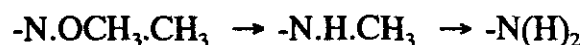


Este es según Geissbüler et al. (1975), el principal mecanismo de destoxificación de la mayoría de los derivados de la urea.

b) **Hidroxilación:** La oxidación de un grupo metil en un hidroxilo, conduce a un metabolito estable no fitotóxico susceptible de conjugarse con glucósidos.



c) **Desmetoxilación:** La pérdida de un grupo metoxi y la oxidación de un grupo metil, conduce a un metabolito no fitotóxico. Esta es una ruta alternativa de degradación para el grupo de metoximetil-fenilureas.



d) **Conjugación** con proteínas y péptidos de bajo peso molecular.

1.5. SELECTIVIDAD VARIETAL

El término *Selectividad* de un herbicida se refiere a su aptitud para destruir una o varias especies vegetales (malas hierbas) sin afectar al menos aparentemente a la planta cultivada, siendo por tanto la cualidad indispensable que se debe exigir a un herbicida para su empleo en Agricultura (García-Baudín y Cadahia, 1987).

La Selectividad de un herbicida depende de numerosos factores que pueden clasificarse, según la revisión anteriormente citada, en:

- a) Factores debidos al herbicida: Donde se agrupan todos los referentes a las características del herbicida así como a su modo de aplicación.
- b) Factores debidos al ambiente: Entre los que el tipo de suelo y las condiciones climáticas son los más importantes.
- c) Factores debidos a la planta: Donde se agrupan todos los relacionados con las condiciones de cultivo; la penetración, el transporte y el metabolismo de los herbicidas en las plantas así como su respuesta en el lugar de acción.

A partir de 1947 se hacen frecuentes las referencias a una distinta respuesta frente a un herbicida, de las diferentes razas de una especie de mala hierba o de los diferentes cultivares de una especie cultivada. En esta línea están los trabajos de Albrecht (1947) en el que se cita el distinto comportamiento frente al herbicida 2,4-D en *Agrostis palustri* o la diferente respuesta al dalapón de cultivares de caña de azúcar (Matherne y Millhollou, 1973), en acelga (Russel 1968), en lino (Stafford et al. 1968) o en maíz (Roth 1957).

Las primeras referencias al problema de sensibilidad varietal en cereales datan de 1952 en trabajos de campo realizados por Longchamp y col., sobre cultivares de avena y cebada; sucediéndose los trabajos sobre otras especies de cereales como maíz (Andersen 1964) o sorgo (Lagos y Cardenas, 1970).

A finales de la década de los sesenta se sintetizan y comercializan diversos compuestos pertenecientes al grupo de los "derivados de la urea", encontrándose a partir de este momento referencias en las que se describen diferentes respuestas de los cultivares de trigo y cebada frente a estos herbicidas. En ensayos de campo, realizando interpretaciones visuales del efecto producido por el herbicida, podemos citar los trabajos de Frost (1972) en cultivares de trigo y cebada con **metoxurón**; Green et al. (1977) en trigos con **clortolurón**, **isoproturón** y **metoxurón**; Griffiths y Ummel (1970) en trigos con **metoxurón**; Lupton y Oliver (1981) en trigos con **clortolurón** e **isoproturón**; Smith y Tyson (1970) en trigos y cebadas con **clortolurón**; Cochet et al. (1973) en trigos con **clortolurón** y **metoxurón**; Covureur et al. (1973) en trigos con **clortolurón**; Degez et al. (1971) en trigo y cebada con **clortolurón** y Oliveira y Palma (1976) en trigo con **clortolurón**, entre otros.

En otros trabajos realizados en campo estimando diferentes parámetros en la evaluación del daño, podemos citar a Mydlilova y Zemanek (1975) en cultivares de trigo con **clortolurón** analizando la capacidad germinativa de los granos después del tratamiento, así como el peso de 1000 granos; Misra y Rathore (1988) en trigos con **metoxurón** estima la densidad de plantas, el nº espigas/planta, longitud de la raíz y altura de la planta así como nº de cloroplastos por célula del mesófilo; Van Hiele et

al. (1970) en trigo con **clortolurón** considera el peso seco de tallos y raíces.

En invernadero, siguiendo una valoración visual de los resultados, se encuentran los trabajos de Blair et al. (1976) en cebada con **metabenzotiazurón**; Stanová et al. (1979) en trigo con **clortolurón** o Thiede (1975) en trigo y cebada con **clortolurón** y **metoxurón**. Otros ensayos de invernadero se realizan mediante la estimación de diferentes parámetros tales como peso seco y fresco en trigos tratados con **clortolurón** y **metoxurón** (Banting et al. 1975), o medidas de radioactividad en trigos tratados con **metoxurón** marcado (Müller y Sanad, 1975).

En cámaras de cultivo de plantas se han realizado trabajos estimando la inhibición producida por el herbicida **clortolurón** en cultivares de trigo mediante técnicas de fluorescencia (Leroux 1982; Cadahia et al. 1982; Sixto y García-Baudín 1988) o medidas sobre el desarrollo de la planta y el metabolismo de carbohidratos en trigos con metoxurón (Petunova 1974).

Los estudios en relación a las diferencias de respuesta varietal en España son muy escasos, limitándose en la mayoría de los casos a pruebas de campo realizadas por las casas que comercializan herbicidas, sobre cultivares empleados en el momento de introducir un nuevo producto en el mercado. En esta línea están los trabajos de Soler (1971) y Gostinchar et al. (1971) con el herbicida **metoxurón**, donde se muestra según una estimación visual del daño, el comportamiento de algunos de los cultivares más utilizados en la época frente a este herbicida.

La respuesta de cuatro cultivares de trigo duro y doce cebadas al herbicida

isoproturón son analizadas en ensayos de campo mediante valoración visual de los resultados por Caveró (1991).

Asímismo, la respuesta del cultivar de trigo blando 'Aragón 03' frente a la acción de clortolurón y metoxurón, es evaluada por García-Baudín (1976), en ensayos de campo mediante la estimación de la merma de producción, obteniendo diferencias significativas respecto al testigo para ambos herbicidas.

La ausencia de datos respecto a las diferencias de respuesta en triticales frente a derivados de la urea es aún más notoria, tanto fuera como dentro de España, pudiendo citarse el trabajo de García-Baudín (1975) en donde se da a conocer la respuesta de 'Cachirulo' frente a clortolurón y metoxurón en ensayos realizados en campo, observándose una disminución significativa de la producción cuando se aplicaron estos herbicidas.

Busey (1976), resalta la necesidad de recomendar los herbicidas en términos de especificidad cultivar, en base a las referencias que hace la bibliografía de este problema. Esto es aún más necesario en nuestro país por el desconocimiento que existe de la respuesta de nuestros cultivares más utilizados frente al grupo de herbicidas derivados de la urea.

Para abordar el problema de la "Sensibilidad varietal" se hace necesario definir términos como Susceptibilidad, Tolerancia y Resistencia, ya que son estos los tres tipos de respuesta de las plantas hacia los herbicidas clásicamente reconocidos (Gressel 1986;

Le Baron y Gressel,1982).

Estos autores definen Susceptibilidad como "la falta de capacidad de una planta para soportar el tratamiento herbicida". Este es un término que no origina polémica y que consideramos como válido a la hora de denominar la posible respuesta sensible de los cultivares del presente trabajo.

Tolerancia y Resistencia describen ambas una "condicion por la que una planta soporta el tratamiento herbicida" (Le Baron y Gressel, 1982). Sin embargo no existe uniformidad o definiciones que resulten consistentes de estos términos, por lo que a menudo se utilizan indistintamente. Tradicionalmente el término Tolerancia ha sido utilizado, por los investigadores y técnicos que trabajan en malas hierbas, para describir la capacidad de soportar el tratamiento herbicida pudiendo esto ser reversible si se utiliza una dosis mayor. Esta respuesta se considera como consecuencia natural de la variabilidad entre especies o grupos taxonómicos presente antes de la aplicación del primer herbicida (Le Baron y Gressel, 1982). El término a menudo se utiliza para describir respuestas de los cultivos a los herbicidas que se deben a mecanismos naturales, como pueden ser diferencias en el metabolismo (Asthon y Craft, 1981).

El término Resistencia generalmente implica el concepto de selección y evolución de un mecanismo para soportar el herbicida, en una población sometida repetidas veces al tratamiento. Sawicki (1987) que propone que la resistencia se aplique cuando suceda un cambio genético en respuesta a la selección de un producto tóxico. Sin embargo estos conceptos así definidos no nos resultan clarificadores.

En el presente trabajo se denominan "cultivares tolerantes a herbicidas derivados de la urea" a aquellos capaces de soportar el tratamiento herbicida a dosis y condiciones medioambientales a los que otros cultivares muestran clara susceptibilidad, pudiendo atribuirse dicha tolerancia a diferencias en la absorción, translocación, inactivación o diferente degradación del herbicida.

OBJETIVO Y PLAN DE TRABAJO

El empleo indiscriminado de herbicidas fenoxiácidos en cultivos de cereales ha acarreado una inversión de la flora adventicia de estos cultivos, hacia especies gramíneas cuya proximidad taxonómica con el cultivo dificulta aún más su control.

Entre los compuestos registrados en la actualidad para su empleo en cereales, el grupo de los derivados de la urea es uno de los de mayor importancia, ya que además de ejercer un buen control sobre especies monocotiledóneas, especialmente del género *Lolium*, son capaces de controlar también un amplio número de dicotiledóneas.

Sin embargo, son frecuentes en la bibliografía las referencias a una distinta respuesta de los cultivares pertenecientes a las especies de *Triticum* y *Hordeum* frente a la acción de herbicidas derivados de la urea. La ausencia de datos en relación al comportamiento de los principales cultivares de cereales que se siembran en nuestro país frente a la aplicación de éstos herbicidas, motivó nuestro interés en conocer estas respuestas.

Los apartados a desarrollar para la consecución de nuestro objetivo, fueron los siguientes:

1. Estudio de la respuesta de cincuenta y tres cultivares pertenecientes a las especies de *Triticum* y *Hordeum*, así como de cinco triticales, frente a la acción de tres herbicidas derivados de la urea (clortolurón, isoproturón y metoxurón). La evaluación del efecto en los cultivares se estimó mediante la cinética de la fase lenta P→S de la fluorescencia clorofílica.

Ello permitió ofrecer una visión general del comportamiento de los principales

cultivares sembrados en España.

2. Abordar la respuesta al herbicida clortolurón en cultivares de diferentes especies de cereales y de dos malas hierbas gramíneas asociadas a estos cultivos, a través de:

2.1. El estudio de la respuesta en planta entera mediante la estimación de la variable peso seco.

2.2. La determinación de la actividad fotosintética mediante la evaluación de la fase rápida $I \rightarrow P$ de la fluorescencia clorofílica.

2.3. La determinación de los niveles de herbicida mediante cromatografía de gases.

3. Una de las alternativas para solventar los problemas que acarrearán las diferencias de respuesta de los cultivares frente a un herbicida, es la modificación de estos hacia la tolerancia.

El conocimiento del determinismo genético de las resistencias es un paso previo a la hora de transferir un carácter. Por ello nos interesamos en el estudio de la herencia de la tolerancia al herbicida clortolurón en dos de los cultivares, ('Castan' y 'Recital'), que presentaron diferencias en la respuesta al herbicida.

CAPITULO 2. MATERIALES Y METODOS

MATERIALES

2.1. MATERIAL BIOLOGICO

- Catorce cultivares procedentes de *Triticum turgidum* L. var. *durum* Desf.
- Diez cultivares procedentes de *Triticum aestivum* L.
- Dieciseis cultivares procedentes de *Hordeum vulgare* L. (Cebadas dísticas)
- Trece cultivares procedentes de *Hordeum vulgare* L. (Cebadas hexásticas)
- Cinco Triticales (*Triticum* x *Secale*)
- Malas hierbas gramíneas asociadas al cultivo de cereales:

Bromus diandrus Roth.

Avena sterilis ssp. *ludoviciana* (Durieu) Nyman

Los cultivares utilizados han sido facilitados por el Instituto Nacional de Semillas y Plantas de Vivero (INSPV), así como por las casas comerciales de semillas, detallándose todos ellos en el Anexo 1.

Las malas hierbas estudiadas proceden de prospecciones realizadas por el laboratorio de Malherbologia del INIA:

- *Bromus diandrus* - Origen: Palau d'Anglesola (Lerida 1988)

- *Avena sterilis* ssp. *ludoviciana* - Origen: Almacelles (Lerida 1988)

2.2. APARATOS EMPLEADOS

- Cámaras de cultivo de plantas con condiciones controladas de temperatura, fotoperiodo e iluminación.

a) Temperatura : $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$ de máxima y $14 \pm 1^{\circ}\text{C}$ de mínima.

Fotoperiodo: 16 h luz y 8 h oscuridad.

Iluminación: 110 - 100 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$

b) Temperatura: entre 5 y 10°C.

Fotoperiodo - 8 h luz.

Iluminación - 1000 lux/m²

- Invernaderos.

a) Con fotoperiodo de 17 h luz mediante lámparas de 500 watios colocados a 3 m de distancia unos de otros y a una altura de 1,60 m. La temperatura osciló entre 19 y 24°C en luz y entre 13 y 17°C en oscuridad.

b) Sin control de temperatura ni iluminación adicional

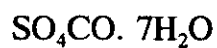
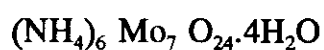
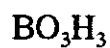
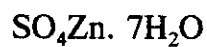
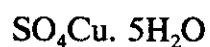
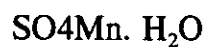
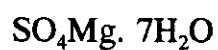
- Estufa Termotronic de 0- 100°C.
- Termómetros de máxima y mínima.
- Agitador selecta.
- Destilador.
- Balanzas.
- Fuente de luz Hansatech LSI.
- Detector de fluorescencia Hansatech.
- Ordenador Apple II e.
- Homogeneizador Polytron.
- Rotavapor.
- Cromatógrafo modelo Aerograph 3700.

2.1.3. HERBICIDAS

- Clortolurón (Anexo 2)
- Isoproturón (Anexo 3)
- Metoxurón (Anexo 4)

2.1.4. REACTIVOS

- Acetona pura.
- Solución nutritiva (Hewitt 1963 - Anexo 5)



- Agua destilada.
- Metanol.
- OH Na

- NaCl.
- Etilacetato.
- Hexano.
- Gel de sílice.
- Cloroformo.

2.1.4. OTROS

- Placas Petri 9 cm de diámetro.
- Papel de filtro 9 cm de diámetro.
- Vasos de plástico.
- Soportes plásticos.
- Rejilla.
- Cartulina negra.
- Tijeras.
- Pinzas.
- Pocillos de vidrio.
- Cucharas de pesar.
- Matraces de 2l, 4l y 5l.
- Probetas de 100, 1000 y 2000 ml.
- Bolsas de papel y de celofán.
- Tubos de vidrio PIREX 2 cm diámetro y 25 cm de longitud.
- Gradillas.
- Frascos de fondo circular de 100 ml.
- Tubos de 10 ml.

METODOS

2.6. ENSAYOS EN PLANTA ENTERA

Las semillas de trigo, cebada y triticale y las cariósides de las malas hierbas se colocaron a germinar en placa Petri sobre papel de filtro humedecido en agua destilada y tubos de vidrio para facilitar la aireación . La germinación se produjo en un intervalo de 48 a 92 h, procediendo entonces a:

2.6.1. Crecimiento en vasos:

Cuando la raíz fue visible y el coleoptilo alcanzó entre 2 y 3 mm, las semillas se colocaron sobre rejillas plásticas acopladas a vasos desechables y protegidas de la luz mediante cartulina negra (Figura 1); conteniendo 160 ml de solución nutritiva (Hewitt 1963). El número de plántulas por vaso fue de 5 efectuando 5 repeticiones por tratamiento. Las condiciones ambientales de las cámaras donde crecieron las plantas, variaban dependiendo de la finalidad del experimento.



Figura 1: Fotografía del crecimiento de la planta en vasos de plástico.

Después de seis días se realizó el tratamiento herbicida. Para ello la materia activa utilizada se disolvió en 5 ml. de acetona y se incorporó mediante agitación a la solución nutritiva, para su absorción vía radicular. Veinticuatro horas más tarde se lavaron las raíces y se restableció la solución nutritiva libre de herbicida.

La incorporación de los herbicidas a la solución nutritiva asegura el contacto del sistema radicular con los tratamientos, evitando casos de selectividad de posición que podrían aparecer si los tratamientos se aplicaran en tierra.

Las materias activas y las dosis utilizadas se detallan en cada experimento. En todos los casos se preparó una disolución madre de 10 ppm preparando a partir de ellas las disoluciones de las dosis requeridas.

Tras retirar el tratamiento herbicida se procedió a:

- A. Detección de la fluorescencia clorofílica. (Técnica que se detalla 2.7.)
- B. Respuesta en planta entera: Estimando el efecto producido por el herbicida mediante el incremento del peso seco.

Para ello, la mitad de las plantas se cortaron inmediatamente después de retirar el herbicida (P_0), manteniendo durante seis días más el resto del material (P_6). Las plantas se desecaron en estufa de 100 °C. durante 24h procediendo a obtener el peso seco.

C. Determinación de los niveles de herbicida. (Técnica que se describe en 2.8.). El peso fresco al retirar el tratamiento (P_0) y seis días después (P_6) se evaluó con anterioridad a proceder a la determinación de niveles.

2.6.2.Crecimiento en tubos de vidrio.

Cuando la raíz fue visible y el coleoptilo alcanzó entre 2 y 3 mm, las semillas se colocaron sobre rejillas de plástico copladas a tubos de vidrio que se protegieron de la luz con cartulina negra (Figura 2). La finalidad del crecimiento en tubos fue la de individualizar las plantas, pudiendo así estimar el peso planta por planta.



Figura 2: Fotografía del crecimiento de plantas en tubos de vidrio.

El crecimiento se realizó en solución nutritiva durante 6 días, procediendo entonces a obtener el peso fresco (P_0) y colocando nuevamente las plantas en el tubo de vidrio. En éste momento se realizó el tratamiento herbicida a través de solución nutritiva durante 24 h, las raíces se lavaron y se restituyó la solución por otra libre de herbicida. Seis días después se pesaron las plantas nuevamente (P_6).

2.7. FLUORESCENCIA CLOROFILICA

La transformación de la energía solar en energía química, por medio del proceso de la fotosíntesis realizado en plantas verdes, necesita en un primer momento de una concentración de energía en los centros fotoquímicos donde va a tener lugar la conversión. Esencialmente este es el papel que juegan las clorofilas y pigmentos anexos, formando grupos de cientos de moléculas que se pueden denominar "antenas de fotones".

Una molécula que absorbe un fotón de luz tiene cierta probabilidad de reemitir un fotón mas débil, observable como fluorescencia, hecho descrito por primera vez en 1931 por Kaustky (Schreiber et al. 1977).

Cuando la fotosíntesis funciona con un rendimiento máximo, los fotones absorbidos son rápidamente transformados por los centros de conversión fotoquímica, limitando la probabilidad de que se disipen como fluorescencia. Esta débil fluorescencia observada cuando el aparato fotosintético funciona a pleno rendimiento se conoce como "fluorescencia constante".

Cuando por el efecto de diferentes factores, entre los que se encuentra la presencia de herbicidas inhibidores del PSII, el rendimiento de la fotosíntesis decrece, los fotones absorbidos tienen menor probabilidad de ser convertidos fotoquímicamente, acumulándose en la "antena de fotones" de donde se disipan en forma de calor o fluorescencia.

La intensidad de la fluorescencia va unida al funcionamiento del aparato fotosintético y varía entre la "fluorescencia constante" (cuando el aparato fotosintético funciona a pleno rendimiento) y la "fluorescencia máxima" (cuando el aparato fotosintético no trabaja).

Al comenzar la iluminación, los centros fotoquímicos están enteramente libres, lo que hace que los fotones absorbidos se conviertan con eficacia máxima. Este nivel inicial que se denomina "nivel O", corresponde a la fluorescencia constante. Al saturarse la "antena de fotones" se produce la disipación en forma de fluorescencia, teniendo lugar esta en dos fases, explicables por la existencia de dos aceptores de e- en serie Q_a y Q_b .

Un primer fotón provoca una reducción de Q_a por transferencia de un electrón $Q_a \rightarrow Q_{a-}$. Los centros fotoquímicos en estado Q_{a-} son incapaces de convertir a los otros fotones que llegan a la antena. Esto en las plantas se traduce en una subida de fluorescencia denominada "fase fotoquímica" $O \rightarrow I$. Los centros se reabren por la reacción $Q_{a-} Q_b \rightarrow Q_a Q_{b-}$ aumentando la fluorescencia más lentamente, denominándose "fase térmica" $I \rightarrow P$.

Estas fases (Figura 3) se denominan "fases rápidas" $O \rightarrow I \rightarrow P$ (alcanzando el máximo de fluorescencia en el nivel P) proporcionando respuestas suficientemente precisas y evaluables cuantitativamente, presentando unos coeficientes de variación para cultivares de trigo del 5% (Ducruet 1983), permitiendo el cociente de los niveles I y P evaluar la proporción de centros del PSII bloqueados por el herbicida.

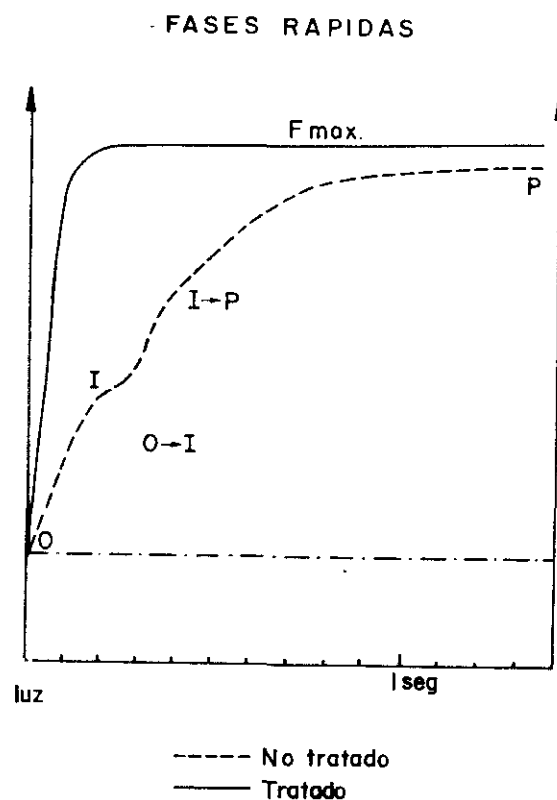


Figura 3: Representación gráfica de las fases rápidas de la cinética de inducción de fluorescencia clorofílica.

Si se realiza la iluminación de forma continuada, es posible distinguir tres casos:

- A- El nivel inicial de fluorescencia detectado disminuye rapidamente y se mantiene a un nivel constante y bajo: la fotosíntesis es normal.
- B- La fluorescencia permanece a un nivel constante y alto: la fotosíntesis se encuentra bloqueada por el herbicida.
- C- La fluorescencia disminuye lentamente, para luego remontar: la fotosíntesis se encuentra parcialmente bloqueada.

Este descenso de fluorescencia (Figura 4) constituye las "fases lentas" $P \rightarrow S$, en contraposición con las "fases rápidas" descritas anteriormente. La evaluación cuantitativa de este parámetro es explicada por Lansac et al. (1984), si bien los coeficientes de variación en cultivares de trigo son del orden del 30% , mucho más elevados que los obtenidos con las fases rápidas (Ducruet 1983).

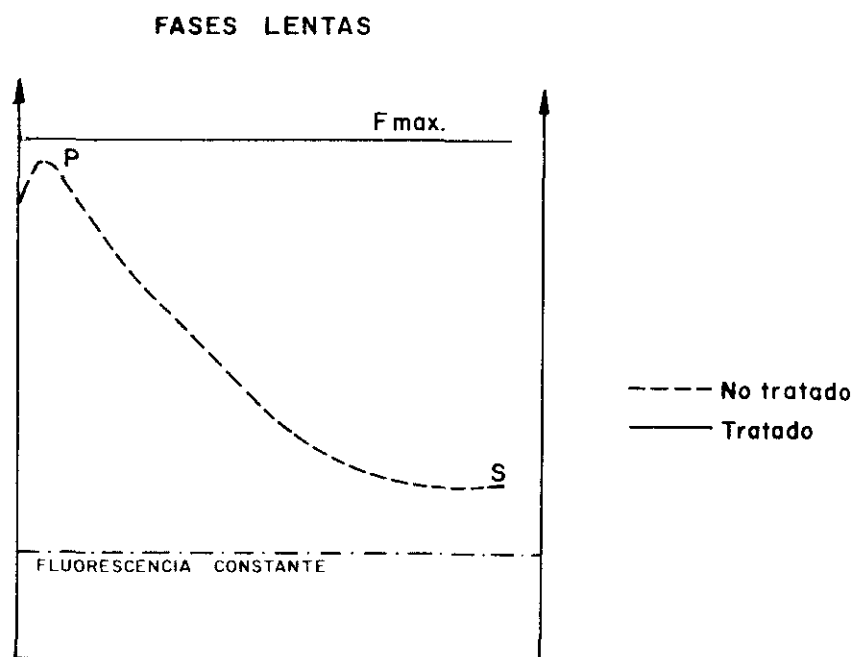


Figura 4: Representación gráfica de las fases lentas de la cinética de inducción de la fluorescencia clorofílica.

Las características de la fluorescencia clorofílica dependen de otros factores además de la propia acción del herbicida (Papageorgiou 1975; Lavorel y Etienne, 1977). Las fases rápidas son susceptibles de ser influenciadas por:

- El tamaño de la " antena de fotones", que variará si trata de una planta C3 o C4 así como de las condiciones de cultivo.
- La concentración de CO₂ disponible en el centro de regulación de transferencia de e-, muy próximo al sitio de bloqueo de los herbicidas.
- El estado del sistema de fotólisis del H₂O ya que este puede verse afectado por la temperatura de ciertos agentes químicos, constituyendo uno de los puntos frágiles de la célula vegetal.

Las fases lentas dependen de los equilibrios iónicos en el cloroplasto y del estado del sistema de asimilación del CO₂.

La aplicación de las técnicas de fluorescencia en el campo de los herbicidas es numerosa, tanto en test de sensibilidad varietal (Leroux 1982; Cadahia et al. 1982), como en la evaluación de formas tolerantes en biotipos de malas hierbas (Ahrens et al. 1981; Ali y Souza Machado, 1981) o en la detección de herbicidas en suelos (Shaw et al. 1985), entre otros.

Así mismo, se utilizan estas técnicas para evaluar el efecto de diferentes factores externos como los provocados por estrés hídrico (Havaux y Lannoye, 1985) o los

provocados por presencia de ozono (Schreiber et al. 1978).

Descripción de las técnicas empleadas para la evaluación de las diferentes fases:

2.7.1. Fase lenta P→S

Antes de proceder a la obtención de los registros, las plantas se mantuvieron dos horas en oscuridad, con el fin de detener el funcionamiento del aparato fotosintético, haciendo máxima la respuesta de fluorescencia (Schreiber et al. 1977) así como para evitar interferencias en la translocación del herbicida (Ducruet et al. 1984).

La iluminación bajo luz continua de las hojas, se realizó mediante una lámpara de 150 W (proyector de diapositivas) a través de un obturador fotográfico y de un filtro azul consistente en una solución de SO_4Cu con concentraciones de 250g/l.

La fluorescencia se detectó a 45 grados del rayo incidente mediante un fototransistor Fortec protegido por un filtro rojo Wratten Kodak nº 70, sensible al infrarrojo próximo. La observación de la señal se realizó mediante un registrador a 0.5 mV con una velocidad de carta de 1 cm/m.

La hoja de la plántula se adosó a una placa metálica negra (con ranura vertical de 25 mm x 7 mm) sujetándola con una pieza inmantada, de modo que no interfiriera en la trayectoria del haz de luz que incidía perpendicularmente sobre la superficie foliar (Figura 5).

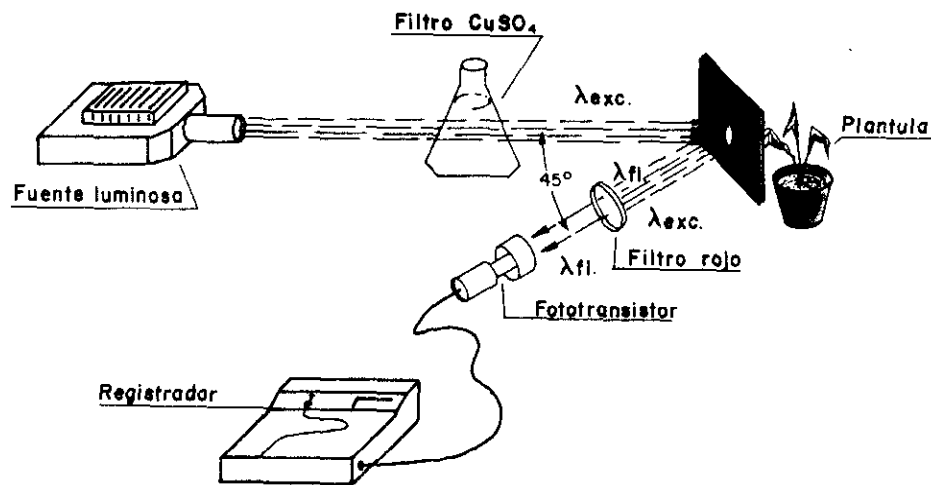


Figura 5: Esquema del dispositivo de medida de la fluorescencia.

λ_{exc} ... excitación (<660 nm.)

λ_{fl} ... fluorescencia (>680 nm.)

filtro rojo: transmisión nula para <660 nm.
y máxima para >680 nm.

Para la excitación de clorofilas se utilizó luz azul seleccionada mediante un filtro de S_0_4Cu . El fototransistor (detector de luz) sólo permite el paso de longitudes de onda cercanas a 685 nm (de la fluorescencia clorofilica) ya que el filtro rojo que los protegía solo permite el paso de ésta excluyendo así la luz de excitación dispersada.

Los registros obtenidos se interpretaron según el método de Ducruet y Gasquez, (1978), en el que cuando la fotosíntesis es normal, el nivel inicial de fluorescencia disminuye rápidamente llegando a un nivel constante, mientras que si la fotosíntesis se encuentra bloqueada por el herbicida, la fluorescencia permanece a un nivel constante alto (Figura 4).

Para la evaluación cuantitativa de la inhibición fotosintética en los registros obtenidos utilizamos la relación: $F_{\text{max}} - F_t / F_{\text{max}}$ (Lansac et al.1984), en donde F_{max} representa el nivel máximo de fluorescencia alcanzado y F_t el nivel de fluorescencia registrado a los 4 minutos de iluminación de la hoja (Figura 6).

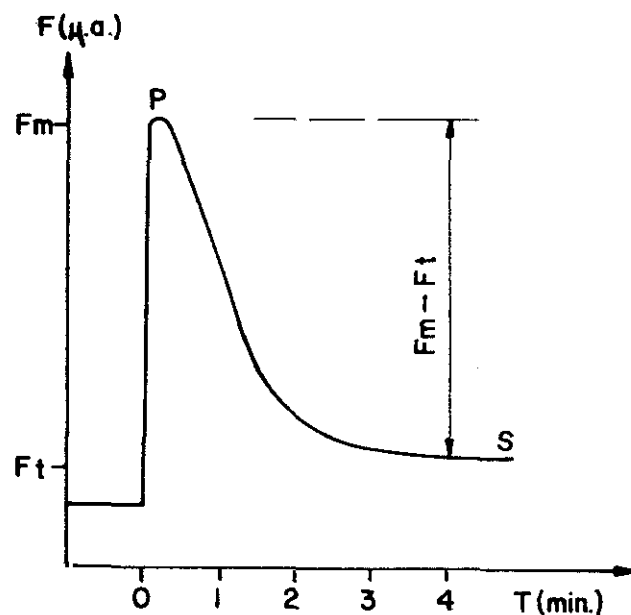


Figura 6: Parámetros evaluados en el registro de fluorescencia
 F_{max} . = nivel máximo alcanzado.
 F_t = nivel alcanzado a los 4 min.
 u.a. = unidades arbitrarias de fluorescencia.

Esta relación indica el descenso observado en la fluorescencia respecto al máximo alcanzado, por lo que el bloqueo provocado por el herbicida se traduce en una disminución de dicha relación, mientras que esta es máxima cuando la fotosíntesis no está alterada.

2.7.2. Fase rápida I→P

Se utilizó una fuente de luz "Hansatech LS1" con potencia de salida de 60 W/m².

Dicha fuente consta de dos partes:

- 1-Caja con 36 diodos emisores de luz, con una banda estrecha de potencia de salida y un máximo de 660 nm. El infrarrojo que contenía era bajo, produciendo por tanto poco calor en la hoja.
- 2-Caja control que permite la regulación de la intensidad de luz y de los pulsos emitidos.

La hoja de la plántula se adosó a una placa metálica negra (con una ranura vertical de 25 mm x 7 m) sujetándola con un imán, de manera que éste no interfiriera en el haz de luz que incidía perpendicularmente sobre la superficie foliar. La iluminación se realizó durante 5 s.

Para detectar la fluorescencia emitida por las plantas se utilizó un "detector Hansatech" que consta de dos partes:

- 1-Sonda que contiene un fotodiodo capaz de detectar la luz emitida y de convertirla en una señal eléctrica proporcional.
- 2-Caja control que contiene un amplificador capaz de regular la señal, y que se encuentra conectado a un ordenador.

Para asegurar que el fotodiodo detecta solo fluorescencia y no luz de excitación dispersada, se incluye un filtro de 740 nm cuyo centro de frecuencia es superior al de la luz utilizada en la iluminación (roja - 660 nm) pero dentro de la región de fluorescencia.

La señal de fluorescencia fue digitalizada por una carta de conversión analógica/digital 12 bits y se almacenó en un computador Apple II, usando un programa "Asamby". El análisis de la señal se realizó mediante un programa Basic, según el método descrito por Ducruet et al. (1984). El canal 1 se definió como la primera señal de fluorescencia, siendo el tiempo de apertura del obturador de menos de 2 ms de manera que el "nivel O" fue estimado a partir de los valores de señal en los niveles 3 y 4.

El "nivel I" correspondió a un valor medio calculado en un dominio de tiempo ajustable (entre 50-70 ms) definido a partir de la forma señal en las hojas control y en las tratadas. El "nivel P" fue detectado, basado en un dominio de tiempo ajustable, como el valor máximo obtenido por sucesivas comparaciones de los valores medios de 100 canales.

2.8. DETERMINACION DE NIVELES DE HERBICIDA EN PLANTA MEDIANTE CROMATOGRAFIA DE GASES.

Muestras de la parte aérea de cinco plantas de los cultivares seleccionados en nuestro estudio, tratados con herbicidas a diferentes dosis así como plantas testigo, se extrajeron extraídas dos veces con 5 ml de metanol: agua (8:2) usando un homogeneizador Polytron.

El extracto se transfirió a un frasco de fondo circular de 100 ml, separando el disolvente orgánico al vacío en un rotavapor. El residuo acuoso se transfirió a un tubo de 10 ml, basificándolo con 1 ml de una solución 0.5 N de OHNa, añadiendo después 0.5 ml de solución saturada de NaCl, extrayendo el herbicida clortolurón con etil acetato.

El disolvente orgánico se separó mediante corriente de nitrógeno y el residuo se disolvió en hexano, utilizando 60 ml de cloroformo como eluyente (volumen que separa los herbicidas de sus metabolitos). Dicho residuo se transfirió a un tubo de 10 ml, que se almacenó hasta el momento de su utilización para la determinación por GLC.

La columna se limpió con el fin de evitar posibles interferencias con otros componentes coextraídos de la planta o con metabolitos N- desmetilados.

El cromatógrafo de gases usado fue el modelo "Variare Aerograph 3700" equipado con detector de llama ionizante alcalina (AFID0 y una columna de gas, 2 m x 1/4", llena con 3% OV-17 de Chromosorb W-HP (malla 80-100), siendo las

condiciones empleadas;

- Temperatura de inyector y detector, 270° C y 300° C respectivamente.
- Gas portador nitrógeno con un flujo de 30 ml/min.
- Rango de corriente del detector 10 -12 amp.
- Atenuación x 4
- Velocidad de la carta 1 cm/min.

En las condiciones mencionadas del cromatógrafo, el herbicida clortolorón se transformó en su correspondiente isocianato (3-cloro-4 metilfenil) para ser cuantificado, ya que éste presenta buenas propiedades cromatográficas (Tadeo et al. 1989). Como patrón externo se empleó una disolución de herbicida de concentración conocida, que se inyectó antes y después de cada muestra.

La concentración de herbicida en los extractos se determinó comparando la altura del pico obtenida para la muestra, con el valor promedio registrado en los patrones inyectados antes y después.

2.9. CULTIVO DE PLANTAS A CRUZAR (Cruzamientos - Polinización).

El cultivo de plantas a cruzar se realizó en invernadero. Para la obtención de la F1, las plantas en estado de dos hojas se vernalizaron 40 días en cámara con temperatura entre 5 y 10 °C. con 1.000 lux/m² de iluminación y fotoperíodo de 8 h. luz.

Tras la vernalización, el cultivo se llevó a cabo en invernadero (Figura 7) con una iluminación de 17 h. al día mediante lámparas de 500 watios, colocadas a 3 m. de distancia entre sí y a 1,60 m. de altura. La temperatura osciló entre 19 y 24 ° C. durante el día y entre 13 y 17 ° C. por la noche.



Figura 7: Fotografía del aspecto general del invernadero.

2.9.1. Cruzamientos

La castración del genitor femenino se llevo a cabo por la técnica habitual. Cuando la espiga ha salido totalmente del zurrón y las anteras están todavía verdes, se corta el extremo superior de la espiga y las espiguillas inferiores.

De las espiguillas restantes se conservan únicamente las flores laterales, para ello se arrancan con una pinzas las centrales. Cuidando de no dañar el ovario, se retiran las tres anteras de cada flor introduciendo una pinza entre lemma y palea. Se cubre la espiga con una bolsa de celofán (Figura 8) y se etiquetan para la posterior identificación del cruzamiento.



Figura 8: Fotografía general de espigas embolsadas.

2.9.2. Polinización.

Se llevó a cabo cortando las espigas polinizadoras en el momento del principio de la antesis y cortando el extremo superior de las glumas. Se introdujo entonces el tallo de la espiga en tierra húmeda hasta la aparición de las anteras. En este momento se cortó la bolsa de la espiga utilizada como hembra por su parte superior y se agitó de forma que caiga el polen, cerrando otra vez la bolsa.

CAPITULO 3.
RESPUESTA FOTOSINTETICA DE LOS PRINCIPALES CULTIVARES DE
TRIGO, CEBADA Y TRITICALE, A DERIVADOS DE LA UREA.

3.1. INTRODUCCION

El diferente comportamiento de los cultivares que pertenecen a una misma especie, frente a la aplicación de herbicidas encaminados a controlar una población de malas hierbas, es un hecho citado repetidamente en la bibliografía.

La ausencia de datos acerca de como es la respuesta de los cultivares de trigo, cebada y triticales más sembrados en nuestro país, cuando se aplican herbicidas del grupo de los derivados de la urea, frecuentemente utilizados en el control de malas hierbas gramíneas, llevó a plantear un primer experimento donde obtener una visión general del comportamiento de estos cultivares.

El modo de acción primario de los herbicidas derivados de la urea, es el bloqueo de la fotosíntesis a nivel del PSII (Moreland 1980; Treest y Draber, 1978), por ello empleamos el estudio de la cinética de destoxificación de estas moléculas, a través de los niveles de fluorescencia emitidos.

El empleo de la fase lenta $P \rightarrow S$, es un método asequible y de fácil utilización (Richard et al. 1983) para evaluar el bloqueo que estos herbicidas provocan en la fotosíntesis.

3.2.MATERIAL Y METODOS

Se emplearon semillas de 29 cultivares de cebada, 14 de trigo duro, 10 de trigo blando y 5 triticales que se detallan en el Anexo 1.

La metodología seguida para el crecimiento de las plantas fue la que se detalla en 2.6.1, y la cámara de crecimiento empleada poseía control de temperatura, que osciló entre $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ en luz y $16\pm 1^{\circ}\text{C}$ en oscuridad; alternancia de 16h luz y 8h oscuridad e intensidad luminosa de $100\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Las plantas crecieron durante seis días en solución nutritiva, realizando en este momento los tratamientos herbicidas con **clortolurón**, **isoproturón** y **metoxurón**, a dosis de 2 y 4 ppm durante 24 h, con tres repeticiones por tratamiento.

El estado de crecimiento de las plantas cuando se realizaron los tratamientos, fue de 1 hoja y media (estado 11 del código decimal de Tottman, 1987).

Las medidas de fluorescencia, para la estimación de la inhibición fotosintética producida por el herbicida, se realizaron a T=0 (momento de la retirada de los tratamientos), T=4 (cuatro días después del tratamiento) y T=6 (sexto día desde la finalización del tratamiento). Se consideró la fase lenta P→S de la cinética de inducción de fluorescencia clorofílica, utilizando el parámetro empleado por Lansac et al.(1984), como se detalla en 2.7.1.

3.3.RESULTADOS Y DISCUSION

A- CULTIVARES DE TRIGO BLANDO

En los Cuadros 1, 2 y 3, se muestran las medidas de fluorescencia clorofílica obtenidas después del tratamiento con clortolurón, isoproturón y metoxurón, a 2 y 4ppm, en cultivares de trigo blando. En las Figuras 9, 10 y 11, se representa la evolución de éstos cultivares mediante histogramas de frecuencia.

Se realizan medidas análogas en plantas testigo con el fin de comprobar que las condiciones de crecimiento eran adecuadas y de que éstas no sufrieran alteraciones ajenas al experimento, observandose que todas se encontraban en un rango de 0.8 y 0.9, lo que indica ausencia de emisión de fluorescencia y por tanto un correcto funcionamiento del aparato fotosintético.

En los cultivares 'Castan', 'Anza', 'Rinconada', 'Marius', 'Yécora', 'Maestro', 'Aranda' y 'Sevillano', se puede observar una vez finalizado el tratamiento de 24h (T=0), una ausencia de inhibición cuando se aplican dosis de 2 y 4ppm de clortolurón y metoxurón (Cuadro 1).

Igualmente se observa que a lo largo del tiempo (T=4 y T=6), el rendimiento fotosintético para estos cultivares fue similar al de plantas testigo no sometidas a tratamiento (Cuadros 2 y 3).

En el caso de los cultivares 'Impeto' y 'Recital', se observa al finalizar el

tratamiento (T=0) con ambos herbicidas, inhibición fotosintética reflejada en el considerable aumento de la fluorescencia de plantas tratadas con respecto al testigo (Cuadro 1).

En el cultivar 'Impeto', se produce una disminución progresiva de la fluorescencia emitida por las hojas, llegando al sexto día a ser similar a la detectada en plantas no tratadas; por el contrario el cultivar 'Recital' mantiene la inhibición a lo largo del ensayo, poniendo de manifiesto su incapacidad para detoxificar los herbicidas clortolurón y metoxurón a las dosis de 2 y 4 ppm.

Cuando el tratamiento se realiza con isoproturón, se observa en todos los cultivares emisión de fluorescencia inmediatamente después de retirar el herbicida (T=0), lo que indica que éste se ha absorbido y translocado, alcanzando el lugar de acción (Cuadro 1).

A lo largo del tiempo se produce una disminución progresiva y rápida de la fluorescencia emitida por las hojas, siendo la velocidad de detoxificación más lenta en los cultivares 'Anza', 'Sevillano' e 'Impeto' que presentan valores similares a los testigos al sexto día, frente al resto de cultivares que lo hacen al cuarto (Cuadros 2 y 3).

B.CULTIVARES DE TRIGO DURO

En los Cuadros 4,5 y 6 se muestran las medidas de fluorescencia clorofílica obtenidas a lo largo de seis días, después de retirar los tratamientos con clortolurón,

isoproturón y metoxurón, a 2 y 4ppm, en cultivares de trigo duro; así mismo en las Figuras 12,13 y 14 se presentan los histogramas de frecuencia.

Una vez finalizado el tratamiento con el herbicida clortolurón ($T=0$), se observa una ausencia de inhibición en todos los cultivares estudiados, a la dosis de aplicación de 2ppm, con la excepción del cultivar 'Cibeles' que presenta un bloqueo parcial de la fotosíntesis en $T=0$, inhibición que desaparece al cuarto día (Cuadro 4).

Para la dosis mayor de clortolurón (4ppm), los cultivares muestran ausencia de inhibición a lo largo del tiempo, salvo en el caso de 'Cibeles', 'Nita', 'Páramo' 'Bidi' y 'Camacho', que se encuentran inhibidos a $T=0$, produciéndose una progresiva destoxificación del herbicida que llega a ser total el cuarto día (Cuadro 5).

Frente al herbicida metoxurón, ninguno de los cultivares estudiados presenta inhibición a lo largo del tiempo, para ninguna de las dosis aplicadas (Cuadros 4,5 y 6).

Cuando el tratamiento se realiza con el herbicida isoproturón, se observa en todos los cultivares, emisión de fluorescencia inmediatamente después de retirar el herbicida ($T=0$), indicando esto que ha habido absorción y translocación alcanzándose el lugar de acción, lo que se aprecia por la inhibición fotosintética reflejada en el aumento de fluorescencia detectada (Cuadro 4).

A lo largo del tiempo se produce una progresiva destoxificación que es más rápida para algunos cultivares como 'Tejón', 'Antón' y 'Páramo' a la dosis de 2ppm (Cuadro 5), sin que ésta se produzca en algunos de ellos como 'Roqueño', 'Vitrón' y

'Antón' a la dosis más alta de aplicación (Cuadro 6).

C. CULTIVARES DE CEBADA

Se han agrupado en dos bloques, las pertenecientes a cebadas de 2 carreras y las pertenecientes a cebadas de 6 carreras.

En los Cuadros 7, 8 y 9 se muestran las medidas de fluorescencia clorofílica obtenidas a lo largo de seis días , después de retirar los tratamientos con clortolurón, metoxurón e isoproturón, a 2 y 4ppm, en cultivares de cebada de 2 carreras. Los histogramas de frecuencia se muestran en las figuras 15,16 y 17.

Se puede observar que una vez finalizado el tratamiento, todos los herbicidas a ambas dosis, se han absorbido por la raíz y han alcanzado el lugar de acción (Cuadro 7).

En los cultivares tratados con clortolurón y metoxurón a dosis de 2 y 4ppm, se produce una disminución progresiva de la fluorescencia emitida por las hojas, que llega al sexto día a ser similar a la fluorescencia detectada en plantas testigo (Cuadro 9), salvo el cultivar 'Iranis' que ya es similar al cuarto día (Cuadro 8).

Asimismo, en el tratamiento con isoproturón, se produce en los cultivares una recuperación análoga, siendo la fluorescencia emitida al cuarto día similar a la de plantas testigo en 'Flavia', 'Iranis','Fitamara' y 'Koru' (Cuadro 8), y al sexto día en

el resto de cultivares ensayados (Cuadro 9).

Las medidas de fluorescencia en cultivares de cebada de 6 carreras, tratadas con los tres herbicidas, se muestran en los Cuadros 10,11 y 12, así como los histogramas en las Figuras 18,19 y 20.

Finalizados los tratamientos ($T=0$), todos los herbicidas han alcanzado el lugar de acción aumentando así la fluorescencia en plantas tratadas (Cuadro 10).

Se observa, para los tres herbicidas, una parcial destoxificación en todos los cultivares el cuarto día de medida, siendo ésta total al sexto día con la excepción de 'Barbarrosa', 'Plaisant' y 'Vegal' frente a la dosis de 4ppm de metoxurón, y 'Plaisant' frente a 4ppm de clortolurón, que no llegan a destoxificar totalmente (Cuadro 12).

D.TRITICALES

Las medidas de fluorescencia clorofílica obtenidas a lo largo de seis días, después de los tratamientos con clortolurón, isoproturón y metoxurón a 2 y 4ppm, en triticales se muestran en los Cuadros 13, 14 y 15, no habiéndose representado los valores obtenidos en un histograma de frecuencias debido al escaso número de cultivares ensayados.

Finalizados los tratamientos con clortolurón ($T=0$), todos los triticales presentan emisión de fluorescencia con la excepción de 'Juanillo', que muestra valores similares

a los de plantas no tratadas (Cuadro 13).

A lo largo del tiempo, se produce una disminución progresiva de la fluorescencia emitida por las hojas en 'Torote', 'Juanillo', 'Camarma' y 'Tajuña', mostrando al sexto día valores similares al testigo. Para el triticales 'Badiel' la inhibición se mantiene a lo largo del ensayo (Cuadro 15).

Cuando el tratamiento se realiza con metoxurón, todos los triticales presentaron emisión de fluorescencia a $T=0$, exceptuando 'Torote' que presenta valores similares al testigo (Cuadro 13). En 'Tajuña', 'Camarma', 'Torote' y 'Juanillo' se produce una disminución progresiva de la fluorescencia emitida, siendo ésta al sexto día similar a al de plantas testigo. El triticales 'Badiel' se muestra inhibido con metoxurón a lo largo del ensayo (Cuadro 15).

Se presenta inhibición en todos los triticales cuando el tratamiento se realiza con isoproturón ($T=0$), destoxificando progresivamente en todos los casos a lo largo del periodo de ensayo sin que ésta llegue a ser total en el caso del triticales 'Badiel'.

De la observación de los resultados se desprende que:

El comportamiento de los cultivares utilizados procedentes del género *Triticum* fué similar frente a los herbicidas clortolurón y metoxurón, en contraste con la respuesta que muestran frente a isoproturon.

Esta similitud en la respuesta de trigos frente a dos derivados de la urea,

clortolurón y metoxurón, es descrita por Lupton (1974), en ensayos realizados en campo, así como también por Tottman et al. (1975) en el Reino Unido, sobre doce cultivares ensayados que mostraron similitud frente a clortolurón y metoxurón en contraste con isoproturón.

Se observa además que los cultivares presentan comportamientos tolerantes, intermedios y sensibles, similar a los descrito por Leroux (1982), cuando los tratamientos se realizan con clortolurón y metoxurón, siendo la respuesta más homogénea frente al isoproturón.

La mayoría de los cultivares de trigo blando ensayados muestran ausencia de inhibición al retirar los tratamientos con clortolurón y metoxurón, ya descrito por Leroux (1982) para cultivares de trigo con tratamientos de clortolurón.

Los cultivares de trigo duro estudiados muestran una mayor sensibilidad frente al herbicida isoproturón en contraste con clortolurón y metoxurón. Este hecho está en concordancia con ensayos realizados en campo por Caveró (1991), sobre cuatro cultivares de trigo duro, analizando su respuesta mediante la estimación visual del daño.

En general, los cultivares procedentes de *Triticum turgidum* var. *durum* se muestran más tolerantes a clortolurón y metoxurón que cualquiera de los otros grupos estudiados, hecho que concuerda con estudios realizados en campo e invernadero por Bouchet et al. (1977), Cochet et al. (1979) o Catizone y Viggiani, (1975).

Todos los cultivares de cebadas presentan comportamientos similares frente a los tres herbicidas , existiendo inhibición a $T=0$ seguida de una mayor o menor destoxificación de los productos. Así mismo se observa que las cebadas de 2 carreras destoxifican más lentamente que las cebadas de seis carreras.

El comportamiento de los triticales ensayados es similar al que muestran los cultivares de trigo, presentando similitud de respuesta frente a clortolurón y metoxurón en contraste con isoproturón. La respuesta a este último herbicida fue similar en todos ellos, apareciendo comportamientos tolerantes y sensibles frente a clortolurón y metoxurón, hecho éste que no conocemos que este citado.

Para el posterior desarrollo de este trabajo se selecciona el herbicida **Clortolurón**, ya que frente a este herbicida han aparecido cultivares de cereales claramente tolerantes y sensibles, mientras que la respuesta frente al isoproturón es más homogénea. La mayor utilización del herbicida clortolurón, en nuestro país, para el control de malas hierbas en cereales justifica la preferencia frente a metoxurón.

La selección de los cultivares atiende a los siguientes criterios:

1. Cultivares procedentes de *Triticum aestivum* : '**Castan**', '**Recital**' y '**Anza**'.

El diferente comportamiento obtenido en los registros de fluorescencia entre el cultivar '**Recital**' (sensible) y el cultivar '**Castan**' (un tolerante elegido al azar) hacen obvia su inclusión en el estudio de sensibilidad varietal a clortolurón. La importancia del cultivar

'Anza' en España, siendo el cultivar de *T.aestivum* más sembrado, hace necesario que su respuesta frente al herbicida sea tenida en cuenta.

2. Cultivares procedentes de *Triticum turgidum* var. *durum* : **'Roqueño'**

La homogeneidad de respuesta detectada en este grupo, con ausencia de inhibición en todos los casos, frente al herbicida clortolurón lleva a seleccionar uno de ellos atendiendo a su importancia en cuanto al número de hectáreas sembradas, así como por presentar una homogeneidad en la germinación que facilita la experimentación.

3. Cultivares procedentes de *Hordeum vulgare* : **'Barbarrosa'**

Por motivos similares a los expuestos para los trigos duros, se selecciona este cultivar.

4. Triticales: **'Tajuña'** y **'Badiel'**

Se incluyen por presentar diferencias en la respuesta al herbicida clortolurón, en los registros de fluorescencia.

Se añade a la lista de cultivares seleccionados, dos malas hierbas gramíneas asociadas al cultivo de cereales como son *Avena sterilis* ssp. *ludoviciana* y *Bromus diandrus* . La primera de ellas es la principal mala hierba en estos cultivos (García-Baudín 1982a), encontrándose ampliamente distribuida en todas las zonas cerealísticas españolas (García-Baudín y Salto, 1979). La segunda, de comportamiento ruderal, recientemente introducida en los trigos y cebadas de nuestro país (García-Baudín 1984), presenta problemas para su control con este tipo de herbicidas (Sixto et al. 1984).

CUADRO 1

Inhibición fotosintética obtenida a T=0, en hojas de cultivares de *T.aestivum* L., después de 24h de tratamiento con clortolurón, isoproturón y metoxurón.

CULTIVARES	TESTIGO		CLORTOLURON				ISOPROTURON				METOXURON			
	\bar{X}	∂n^{-1}	2ppm		4ppm		2ppm		4ppm		2ppm		4ppm	
			\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}
CASTAN	0.83	0.015	0.83	0.01	0.83	0.01	0.46	0.005	0.36	0.005	0.85	0.017	0.80	0.015
ANZA	0.85	0.011	0.84	0.005	0.84	0.005	0.34	0.037	0.34	0.098	0.82	0.010	0.85	0.011
MARIUS	0.84	0.015	0.83	0.011	0.84	0.005	0.24	0.010	0.23	0.023	0.84	0.005	0.40	0.020
RECITAL	0.84	0.005	0.21	0.026	0.21	0.025	0.32	0.051	0.27	0.047	0.22	0.072	0.12	0.026
IMPETO	0.83	0.015	0.20	0.025	0.19	0.015	0.22	0.020	0.19	0.11	0.67	0.036	0.33	0.030
YECORA	0.83	0.011	0.84	0.051	0.82	0.01	0.73	0.083	0.38	0.064	0.78	0.063	0.74	0.150
MAESTRO	0.82	0.015	0.80	0.020	0.75	0.040	0.33	0.025	0.29	0.015	0.81	0.011	0.78	0.020
ARANDA	0.83	0.020	0.77	0.040	0.76	0.052	0.29	0.036	0.30	0.055	0.82	0.020	0.80	0.020
SEVILLANO	0.86	0.005	0.85	0.005	0.82	0.020	0.51	0.080	0.37	0.020	0.85	0.011	0.85	0.010
RINCONADA	0.87	0.011	0.86	0.025	0.84	0.005	0.52	0.041	0.41	0.017	0.84	0.023	0.85	0.010

Los valores presentados son media de 10 repeticiones.

CUADRO 2

Inhibición fotosintética obtenida a T=4, en hojas de cultivares de *T.aestivum* L., después de 24h de tratamiento con clortolurón, isoproturón y metoxurón.

CULTIVARES	TESTIGO		CLORTOLURON				ISOPROTURON				METOXURON			
	\bar{X}	σn^{-1}	2ppm		4ppm		2ppm		4ppm		2ppm		4ppm	
			\bar{X}	σn^{-1}	\bar{X}	σn^{-1}	\bar{X}	σn^{-1}	\bar{X}	σn^{-1}	\bar{X}	σn^{-1}	\bar{X}	σn^{-1}
CASTAN	0.85	0.011	0.84	0.015	0.86	0.011	0.84	0.005	0.85	0.010	0.84	0.011	0.80	0.025
ANZA	0.84	0.023	0.85	0.030	0.83	0.020	0.33	0.19	0.34	0.040	0.84	0.030	0.86	0.005
MARIUS	0.84	0.023	0.84	0.015	0.84	0.015	0.73	0.050	0.70	0.025	0.84	0.020	0.83	0.025
RECITAL	0.84	0.010	0.24	0.015	0.24	0.030	0.78	0.077	0.73	0.026	0.26	0.040	0.09	0.026
IMPETO	0.83	0.017	0.70	0.025	0.65	0.056	0.61	0.015	0.60	0.11	0.84	0.005	0.83	0.020
YECORA	0.83	0.015	0.82	0.015	0.84	0.015	0.82	0.023	0.67	0.005	0.83	0.015	0.83	0.015
MAESTRO	0.83	0.023	0.80	0.066	0.83	0.010	0.85	0.020	0.83	0.010	0.82	0.017	0.83	0.011
ARANDA	0.85	0.005	0.81	0.025	0.81	0.032	0.84	0.017	0.84	0.036	0.84	0.011	0.84	0.028
SEVILLANO	0.83	0.010	0.86	0.017	0.84	0.011	0.52	0.017	0.58	0.011	0.84	0.011	0.84	0.017
RINCONADA	0.84	0.005	0.86	0.010	0.85	0.015	0.83	0.005	0.85	0.026	0.85	0.026	0.86	0.010

Los valores presentados son media de 10 repeticiones.

CUADRO 3

Inhibición fotosintética obtenida a T=6, en hojas de cultivares de *T.aestivum* L., después de 24h de tratamiento con clortolurón, isoproturón y metoxurón.

CULTIVARES	TESTIGO		CLORTOLURON				ISOPROTURON				METOXURON			
	\bar{X}	σn^{-1}	2ppm		4ppm		2ppm		4ppm		2ppm		4ppm	
			\bar{X}	σn^{-1}	\bar{X}	σn^{-1}	\bar{X}	σn^{-1}	\bar{X}	σn^{-1}	\bar{X}	σn^{-1}	\bar{X}	σn^{-1}
CASTAN	0.82	0.020	0.84	0.010	0.85	0.020	0.83	0.010	0.84	0.005	0.85	0.020	0.84	0.020
ANZA	0.84	0.005	0.81	0.035	0.83	0.010	0.82	0.025	0.72	0.10	0.82	0.049	0.86	0.005
MARIUS	0.84	0.02	0.85	0.01	0.84	0.011	0.84	0.020	0.70	0.025	0.85	0.005	0.85	0.011
RECITAL	0.84	0.005	0.35	0.045	0.20	0.095	0.83	0.005	0.76	0.065	0.26	0.070	0.09	0.005
IMPETO	0.84	0.015	0.82	0.005	0.82	0.005	0.84	0.015	0.82	0.000	0.84	0.01	0.84	0.005
YECORA	0.84	0.005	0.85	0.020	0.84	0.015	0.81	0.01	0.82	0.017	0.83	0.025	0.84	0.020
MAESTRO	0.83	0.011	0.84	0.005	0.80	0.052	0.83	0.020	0.83	0.010	0.81	0.025	0.84	0.005
ARANDA	0.83	0.011	0.82	0.011	0.82	0.011	0.84	0.011	0.82	0.011	0.83	0.020	0.85	0.011
SEVILLANO	0.86	0.005	0.84	0.011	0.84	0.020	0.83	0.005	0.83	0.011	0.85	0.017	0.85	0.026
RINCONADA	0.84	0.005	0.85	0.020	0.85	0.011	0.84	0.015	0.85	0.026	0.83	0.005	0.84	0.032

Los valores presentados son media de 10 repeticiones.

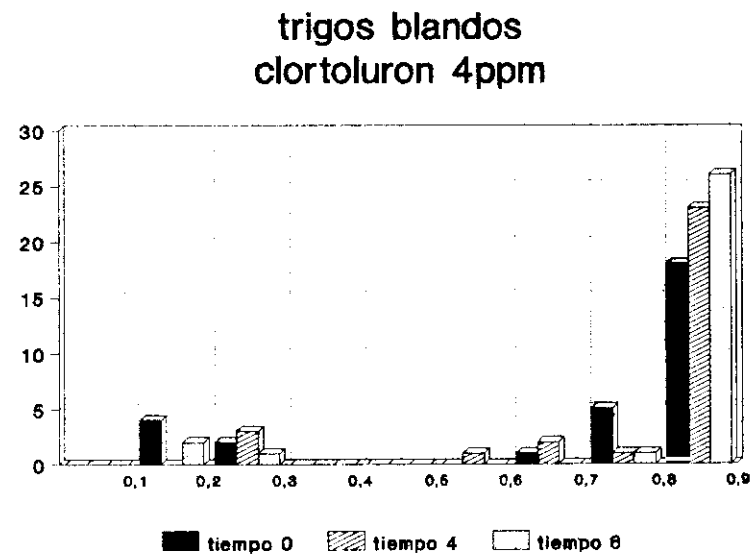
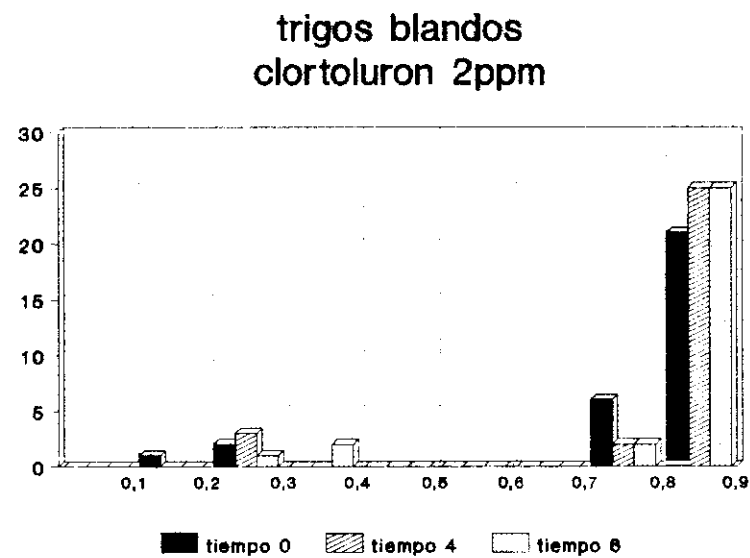


Figura 9: Frecuencia de distribución de los registros de fluorescencia en trigos blandos tratados con clortolurón.

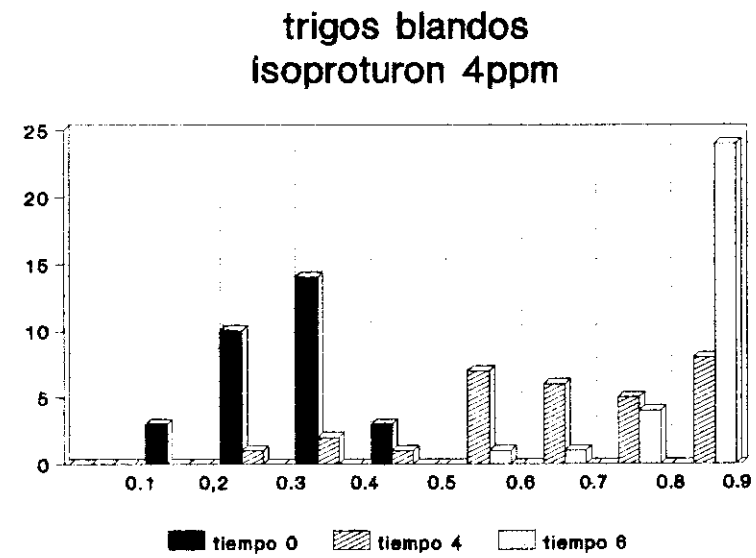
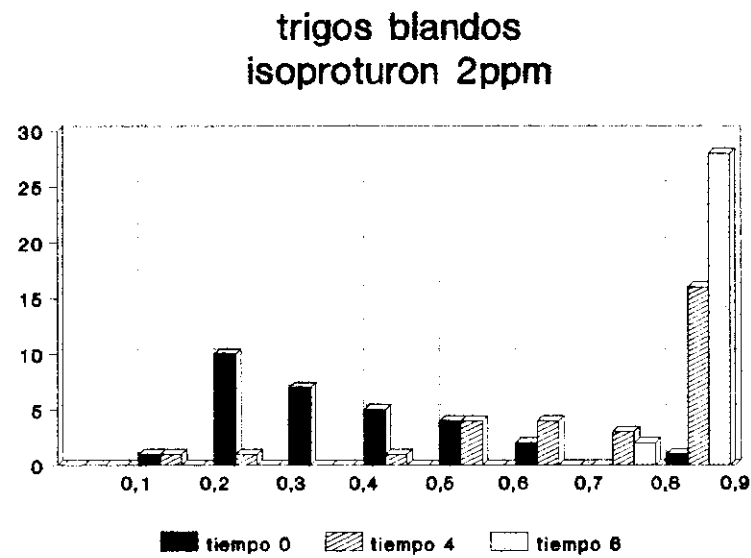


Figura 10: Frecuencia de distribución de los registros de fluorescencia en trigos blandos tratados con isoproturón.

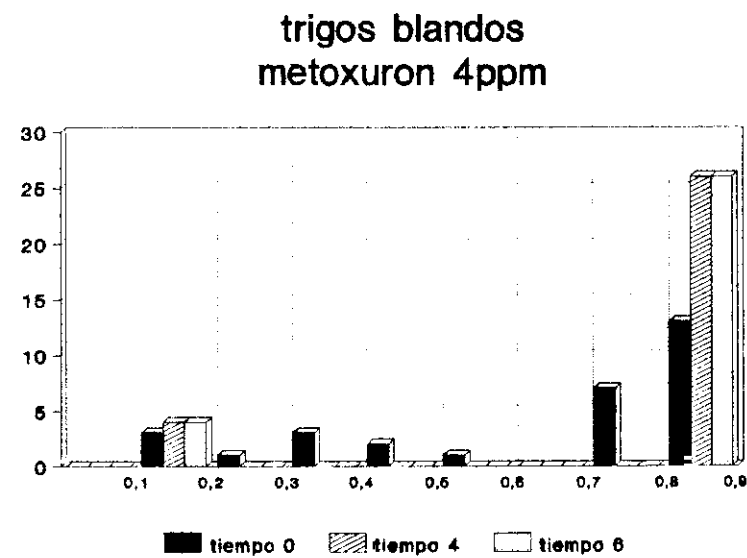
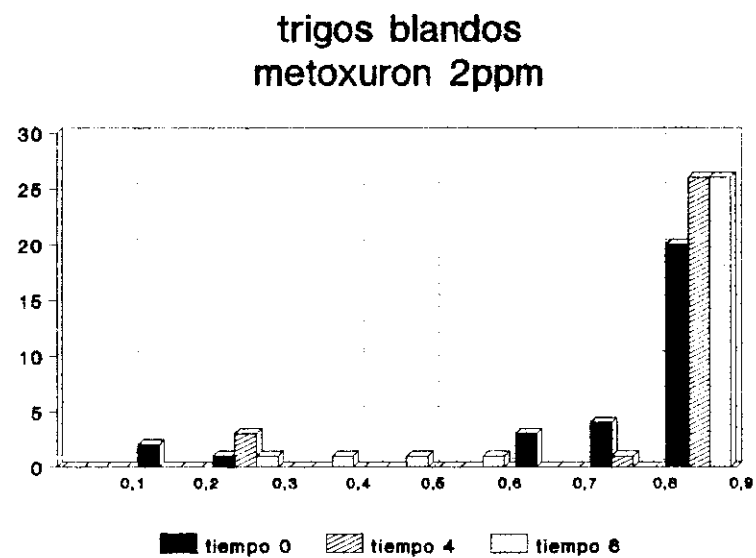


Figura 11: Frecuencia de distribución de los registros de fluorescencia en trigos blandos tratados con clortolurón.

CUADRO 4

Inhibición fotosintética obtenida a T=0, en hojas de cultivares de *T.turgidum* L. var. *durum* Desf., después de 24h de tratamiento con clortolurón, isoproturón y metoxurón.

	TESTIGO		CLORTOLURON				ISOPROTURON				METOXURON			
			2ppm		4ppm		2ppm		4ppm		2ppm		4ppm	
	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}
MEXA	0.83	0.010	0.85	0.020	0.80	0.060	0.25	0.010	0.25	0.030	0.84	0.005	0.83	0.020
ROQUEÑO	0.88	0.005	0.85	0.005	0.85	0.015	0.37	0.030	0.34	0.085	0.84	0.015	0.83	0.020
ESQUILACHE	0.85	0.015	0.86	0.001	0.84	0.025	0.46	0.049	0.37	0.026	0.83	0.011	0.83	0.020
VITRON	0.85	0.017	0.84	0.020	0.66	0.080	0.35	0.011	0.31	0.015	0.87	0.011	0.85	0.011
CIBELES	0.83	0.030	0.61	0.22	0.31	0.052	0.31	0.015	0.42	0.052	0.83	0.020	0.81	0.020
JILOCA	0.85	0.025	0.85	0.010	0.77	0.120	0.39	0.052	0.35	0.005	0.85	0.020	0.83	0.020
TEJON	0.86	0.005	0.83	0.030	0.82	0.010	0.43	0.040	0.31	0.020	0.83	0.005	0.83	0.005
SAFARI	0.84	0.015	0.83	0.005	0.81	0.025	0.30	0.005	0.29	0.020	0.82	0.005	0.82	0.010
ANTON	0.83	0.015	0.84	0.010	0.74	0.140	0.33	0.010	0.31	0.017	0.83	0.010	0.85	0.015
PARAMO	0.85	0.020	0.85	0.005	0.62	0.190	0.33	0.030	0.27	0.025	0.84	0.005	0.84	0.011
NITA	0.84	0.005	0.85	0.005	0.43	0.030	0.30	0.005	0.31	0.025	0.86	0.005	0.77	0.090
BIDI	0.84	0.010	0.84	0.010	0.55	0.230	0.25	0.026	0.24	0.011	0.87	0.005	0.85	0.011
CAMACHO	0.86	0.005	0.80	0.005	0.52	0.240	0.26	0.032	0.34	0.036	0.84	0.005	0.83	0.005
JABATO	0.85	0.01	0.84	0.005	0.80	0.005	0.33	0.020	0.36	0.052	0.84	0.005	0.84	0.010

Los valores presentados son media de 10 repeticiones.

CUADRO 5

Inhibición fotosintética obtenida a T=4, en hojas de cultivares de *T.turgidum* L.var. *durum* Desf., después de 24h de tratamiento con clortolurón, isoproturón y metoxurón.

	TESTIGO		CLORTOLURON				ISOPROTURON				METOXURON			
			2ppm		4ppm		2ppm		4ppm		2ppm		4ppm	
	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}
MEXA	0.82	0.030	0.84	0.010	0.83	0.005	0.63	0.150	0.33	0.005	0.84	0.005	0.83	0.010
ROQUEÑO	0.89	0.005	0.87	0.005	0.86	0.005	0.43	0.032	0.32	0.023	0.87	0.001	0.87	0.010
ESQUILACHE	0.85	0.011	0.85	0.001	0.85	0.015	0.39	0.090	0.31	0.020	0.85	0.005	0.86	0.005
VITRON	0.84	0.010	0.82	0.011	0.83	0.026	0.49	0.020	0.34	0.025	0.85	0.026	0.85	0.050
CIBELES	0.86	0.020	0.87	0.015	0.74	0.100	0.46	0.035	0.39	0.036	0.86	0.020	0.85	0.020
JILOCA	0.86	0.030	0.87	0.005	0.87	0.010	0.42	0.015	0.45	0.020	0.85	0.015	0.85	0.025
TEJON	0.85	0.017	0.84	0.011	0.86	0.005	0.79	0.068	0.44	0.230	0.84	0.017	0.85	0.011
SAFARI	0.85	0.026	0.86	0.005	0.85	0.005	0.61	0.010	0.26	0.120	0.83	0.011	0.83	0.011
ANTON	0.86	0.010	0.85	0.015	0.83	0.023	0.80	0.010	0.63	0.025	0.82	0.010	0.81	0.030
PARAMO	0.83	0.010	0.84	0.005	0.82	0.010	0.80	0.015	0.79	0.015	0.83	0.030	0.84	0.030
NITA	0.83	0.015	0.85	0.015	0.84	0.032	0.24	0.043	0.20	0.040	0.84	0.011	0.85	0.017
BIDI	0.85	0.005	0.87	0.010	0.86	0.025	0.64	0.110	0.38	0.160	0.85	0.011	0.86	0.017
CAMACHO	0.84	0.010	0.82	0.005	0.70	0.095	0.51	0.100	0.43	0.060	0.84	0.015	0.84	0.015
JABATO	0.85	0.023	0.83	0.020	0.83	0.005	0.59	0.020	0.37	0.010	0.85	0.020	0.84	0.015

Los valores presentados son media de 10 repeticiones.

CUADRO 6

Inhibición fotosintética obtenida a T=6, en hojas de cultivares de *T.turgidum* L.var.*durum* Desf., después de 24h de tratamiento con clortolurón, isoproturón y metoxurón.

	TESTIGO		CLORTOLURON				ISOPROTURON				METOXURON			
			2ppm		4ppm		2ppm		4ppm		2ppm		4ppm	
	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}
MEXA	0.83	0.020	0.83	0.005	0.84	0.015	0.75	0.045	0.63	0.077	0.83	0.005	0.83	0.005
ROQUEÑO	0.83	0.020	0.84	0.001	0.84	0.005	0.80	0.058	0.52	0.100	0.83	0.005	0.84	0.010
ESQUILACHE	0.83	0.015	0.83	0.001	0.84	0.010	0.85	0.015	0.70	0.043	0.83	0.010	0.83	0.025
VITRON	0.84	0.005	0.82	0.025	0.83	0.015	0.84	0.005	0.60	0.030	0.85	0.026	0.83	0.011
CIBELES	0.82	0.025	0.86	0.010	0.85	0.005	0.85	0.015	0.82	0.036	0.85	0.025	0.86	0.020
JILOCA	0.83	0.005	0.84	0.015	0.84	0.015	0.86	0.005	0.85	0.005	0.89	0.015	0.83	0.015
TEJON	0.85	0.005	0.82	0.023	0.83	0.005	0.86	0.005	0.82	0.011	0.83	0.015	0.83	0.010
SAFARI	0.84	0.010	0.83	0.021	0.84	0.032	0.80	0.011	0.70	0.230	0.84	0.020	0.83	0.011
ANTON	0.83	0.005	0.85	0.005	0.84	0.005	0.85	0.001	0.64	0.030	0.84	0.010	0.84	0.005
PARAMO	0.84	0.015	0.85	0.011	0.85	0.020	0.86	0.010	0.77	0.064	0.84	0.001	0.83	0.010
NITA	0.85	0.011	0.83	0.005	0.85	0.005	0.72	0.080	0.69	0.110	0.84	0.020	0.86	0.005
BIDI	0.84	0.010	0.83	0.025	0.86	0.010	0.87	0.011	0.72	0.220	0.85	0.020	0.85	0.017
CAMACHO	0.86	0.025	0.82	0.005	0.85	0.010	0.81	0.011	0.76	0.010	0.85	0.015	0.84	0.020
JABATO	0.83	0.005	0.83	0.010	0.83	0.005	0.83	0.005	0.70	0.130	0.84	0.011	0.83	0.010

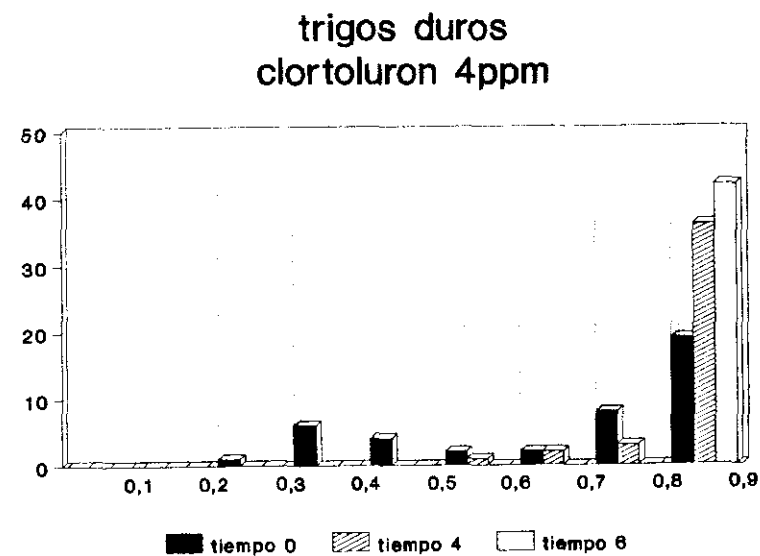
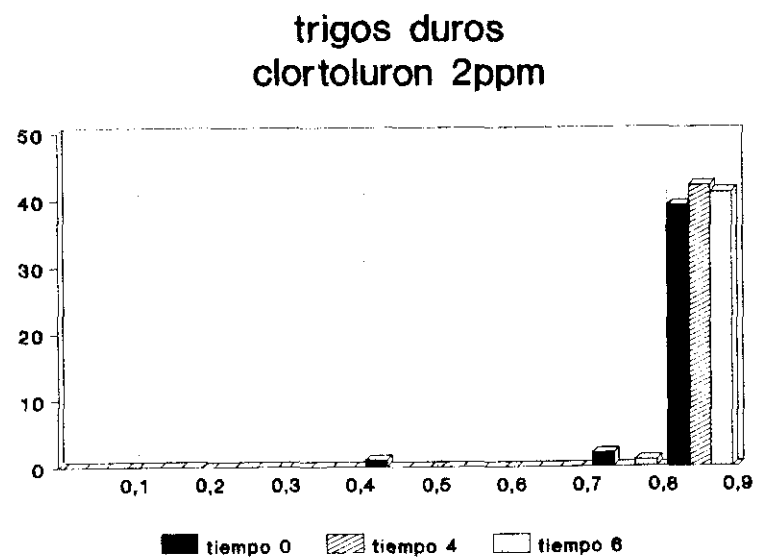


Figura 12: Frecuencia de distribución de los registros de fluorescencia en trigos duros tratados con clortolurón.

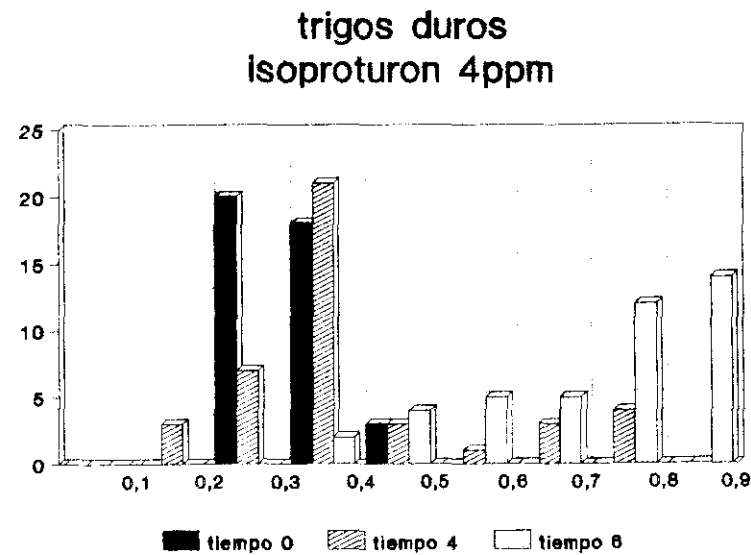
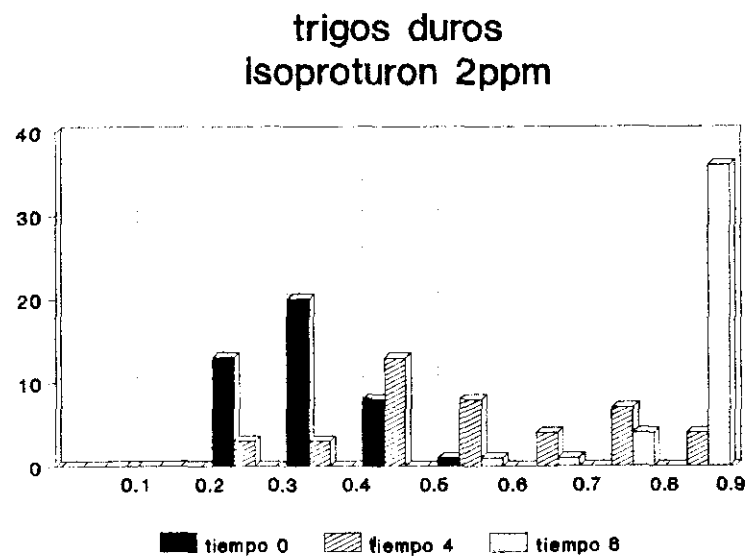


Figura 13: Frecuencia de distribución de los registros de fluorescencia en trigos duros tratados con isoproturón.

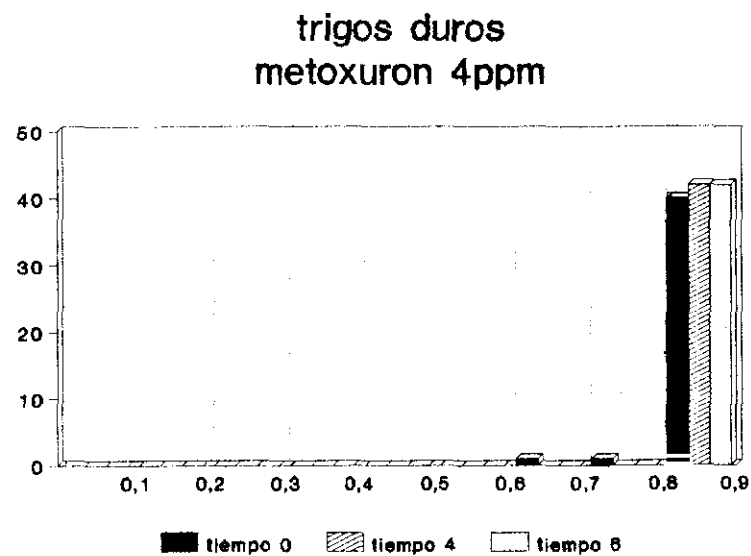
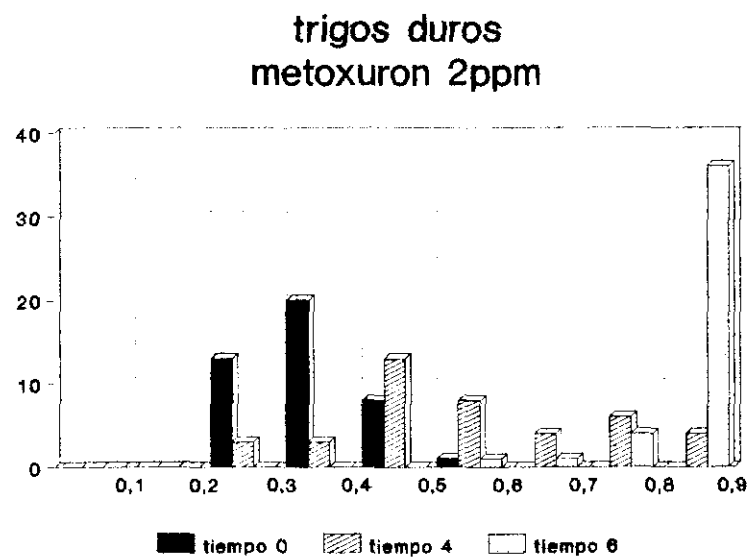


Figura 14: Frecuencia de distribución de los registros de fluorescencia en trigos duros tratados con metoxurón.

CUADRO 7

Inhibición fotosintética obtenida a T=0, en hojas de cultivares de *H.vulgare* L. (dísticas), después de 24h de tratamiento con clortolurón, isoproturón y metoxurón.

	TESTIGO		CLORTOLURON				ISOPROTURON				METOXURON			
	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}
PALLAS	0.84	0.005	0.33	0.011	0.30	0.035	0.35	0.036	0.28	0.015	0.33	0.005	0.27	0.011
BEKA	0.83	0.030	0.32	0.030	0.29	0.055	0.26	0.020	0.26	0.015	0.31	0.051	0.24	0.028
ALPHA	0.81	0.025	0.22	0.026	0.19	0.024	0.24	0.030	0.19	0.005	0.20	0.032	0.20	0.037
TRAIT UNION	0.83	0.005	0.32	0.034	0.35	0.096	0.33	0.015	0.38	0.035	0.37	0.015	0.34	0.030
PRIVER	0.81	0.015	0.22	0.017	0.20	0.005	0.18	0.036	0.21	0.043	0.22	0.010	0.22	0.025
KORU	0.80	0.005	0.26	0.047	0.28	0.061	0.28	0.010	0.21	0.015	0.24	0.015	0.22	0.030
KYM	0.80	0.010	0.20	0.025	0.17	0.015	0.25	0.005	0.20	0.020	0.20	0.020	0.19	0.028
FITAMARA	0.84	0.010	0.33	0.026	0.30	0.020	0.31	0.037	0.26	0.037	0.32	0.050	0.27	0.047
UNION	0.85	0.015	0.33	0.065	0.29	0.046	0.35	0.017	0.31	0.040	0.35	0.026	0.31	0.034
HASSAN	0.83	0.010	0.42	0.100	0.29	0.032	0.32	0.015	0.32	0.025	0.33	0.025	0.27	0.049
LOGRA	0.84	0.010	0.21	0.005	0.18	0.020	0.22	0.015	0.23	0.020	0.22	0.011	0.19	0.015
CLARET	0.84	0.001	0.32	0.015	0.31	0.015	0.64	0.170	0.32	0.001	0.68	0.049	0.49	0.250
IRANIS	0.84	0.011	0.36	0.010	0.43	0.030	0.40	0.020	0.37	0.035	0.49	0.030	0.38	0.069
MENUET	0.85	0.005	0.29	0.030	0.28	0.026	0.33	0.032	0.33	0.035	0.36	0.020	0.20	0.060
GEORGIE	0.85	0.017	0.25	0.066	0.23	0.005	0.23	0.047	0.18	0.020	0.21	0.017	0.19	0.011
FLAVIA	0.84	0.010	0.32	0.075	0.35	0.046	0.35	0.026	0.32	0.055	0.60	0.180	0.38	0.045

Los valores presentados son media de 10 repeticiones.

CUADRO 8

Inhibición fotosintética obtenida a T=4, en hojas de cultivares de *H.vulgare* L. (díscicas), después de 24h de tratamiento con clortolurón, isoproturón y metoxurón.

	TESTIGO		CLORTOLURON				ISOPROTURON				METOXURON			
			2ppm		4ppm		2ppm		4ppm		2ppm		4ppm	
	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}
PALLAS	0.82	0.020	0.35	0.015	0.32	0.015	0.54	0.079	0.39	0.015	0.42	0.015	0.33	0.005
BEKA	0.82	0.011	0.45	0.010	0.34	0.068	0.26	0.058	0.23	0.040	0.39	0.020	0.28	0.097
ALPHA	0.81	0.015	0.58	0.010	0.22	0.005	0.67	0.010	0.26	0.005	0.25	0.030	0.25	0.010
TRAIT UNION	0.83	0.001	0.43	0.010	0.36	0.005	0.43	0.065	0.37	0.025	0.50	0.100	0.39	0.069
PRIVER	0.81	0.010	0.30	0.040	0.23	0.030	0.22	0.025	0.22	0.025	0.39	0.180	0.27	0.015
KORU	0.83	0.015	0.22	0.011	0.23	0.005	0.73	0.055	0.60	0.050	0.35	0.017	0.43	0.035
KYM	0.80	0.020	0.21	0.010	0.18	0.010	0.24	0.015	0.16	0.040	0.26	0.010	0.18	0.010
FITAMARA	0.85	0.015	0.47	0.037	0.28	0.036	0.81	0.058	0.79	0.060	0.67	0.060	0.65	0.020
UNION	0.82	0.017	0.55	0.055	0.49	0.030	0.43	0.030	0.39	0.072	0.39	0.025	0.37	0.005
HASSAN	0.84	0.001	0.61	0.130	0.28	0.110	0.63	0.110	0.38	0.041	0.58	0.090	0.53	0.110
LOGRA	0.82	0.017	0.30	0.085	0.28	0.072	0.66	0.056	0.75	0.047	0.50	0.015	0.21	0.011
CLARET	0.85	0.005	0.57	0.011	0.48	0.015	0.65	0.020	0.70	0.010	0.60	0.011	0.59	0.020
IRANIS	0.82	0.020	0.81	0.026	0.76	0.020	0.83	0.005	0.60	0.010	0.84	0.010	0.61	0.015
MENUET	0.85	0.010	0.54	0.005	0.45	0.026	0.74	0.017	0.67	0.011	0.56	0.037	0.54	0.005
GEORGIE	0.83	0.011	0.19	0.005	0.21	0.010	0.33	0.015	0.24	0.020	0.25	0.015	0.20	0.023
FLAVIA	0.82	0.005	0.64	0.017	0.51	0.026	0.77	0.015	0.71	0.017	0.69	0.010	0.53	0.017

Los valores presentados son media de 10 repeticiones.

CUADRO 9

Inhibición fotosintética obtenida a T=6, en hojas de cultivares de *H.vulgare* L. (dísticas), después de 24h de tratamiento con clortolurón, isoproturón y metoxurón.

	TESTIGO		CLORTOLURON				ISOPROTURON				METOXURON			
			2ppm		4ppm		2ppm		4ppm		2ppm		4ppm	
	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}
PALLAS	0.81	0.030	0.67	0.080	0.62	0.055	0.82	0.011	0.81	0.015	0.81	0.011	0.63	0.092
BEKA	0.81	0.005	0.67	0.070	0.62	0.035	0.82	0.015	0.81	0.015	0.80	0.020	0.71	0.056
ALPHA	0.81	0.015	0.70	0.030	0.69	0.055	0.80	0.005	0.64	0.015	0.62	0.110	0.59	0.040
TRAIT UNION	0.83	0.010	0.70	0.035	0.69	0.140	0.72	0.100	0.66	0.250	0.61	0.190	0.61	0.150
PRIVER	0.82	0.010	0.79	0.011	0.67	0.026	0.83	0.015	0.60	0.170	0.81	0.017	0.80	0.063
KORU	0.80	0.005	0.70	0.058	0.67	0.047	0.81	0.020	0.76	0.025	0.68	0.072	0.67	0.020
KYM	0.81	0.020	0.67	0.005	0.66	0.005	0.69	0.025	0.61	0.120	0.72	0.086	0.73	0.085
FTTAMARA	0.83	0.025	0.71	0.037	0.63	0.020	0.83	0.032	0.81	0.030	0.79	0.015	0.78	0.041
UNION	0.83	0.030	0.69	0.026	0.67	0.065	0.80	0.015	0.79	0.005	0.68	0.015	0.63	0.087
HASSAN	0.84	0.015	0.73	0.020	0.67	0.010	0.85	0.026	0.78	0.040	0.80	0.032	0.63	0.015
LOGRA	0.82	0.015	0.73	0.080	0.75	0.110	0.80	0.011	0.80	0.040	0.74	0.100	0.67	0.035
CLARET	0.84	0.023	0.78	0.015	0.76	0.010	0.79	0.030	0.79	0.030	0.69	0.030	0.67	0.026
IRANIS	0.80	0.025	0.85	0.005	0.82	0.030	0.84	0.001	0.83	0.030	0.76	0.026	0.64	0.010
MENUET	0.80	0.015	0.65	0.010	0.60	0.037	0.84	0.015	0.72	0.100	0.64	0.055	0.62	0.026
GEORGIE	0.83	0.030	0.63	0.030	0.70	0.070	0.74	0.010	0.56	0.350	0.66	0.060	0.62	0.075
FLAVIA	0.84	0.010	0.66	0.020	0.64	0.010	0.81	0.020	0.78	0.005	0.74	0.020	0.69	0.025

Los valores presentados son media de 10 repeticiones.

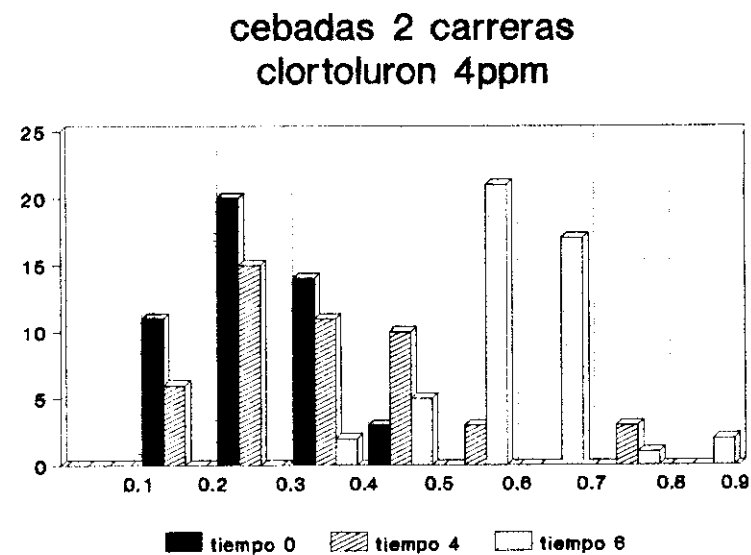
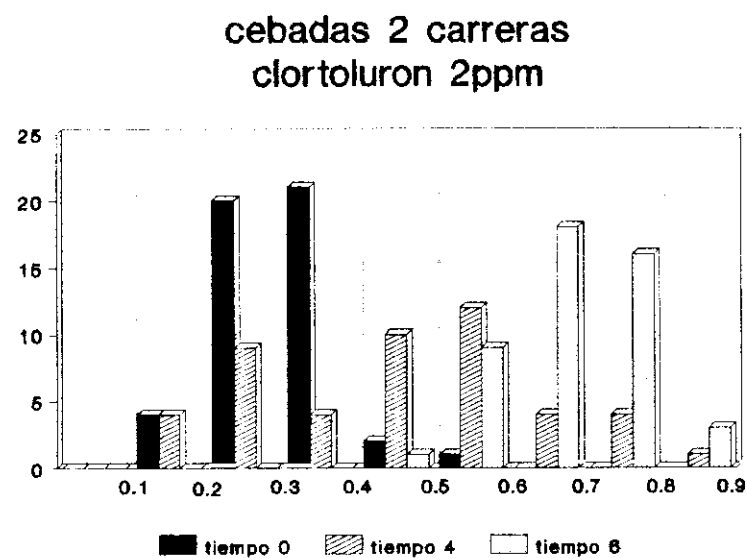


Figura 15: Frecuencia de distribución de los registros de fluorescencia en cebadas de 2 carreras tratadas con clortolurón.

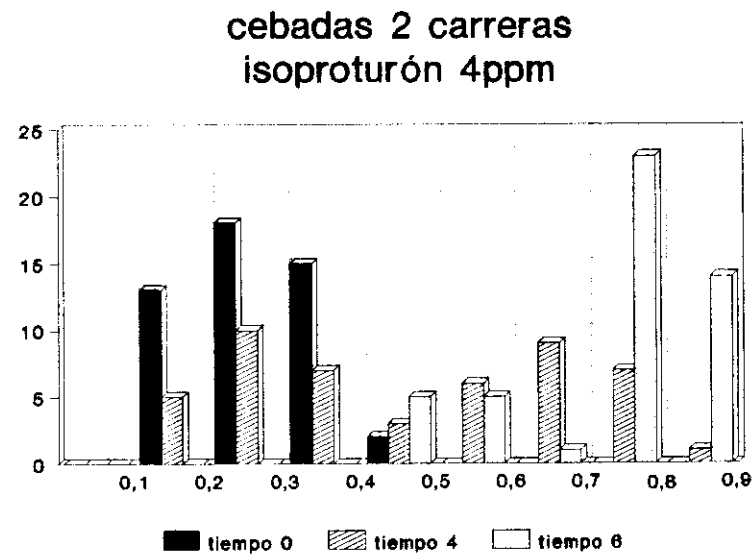
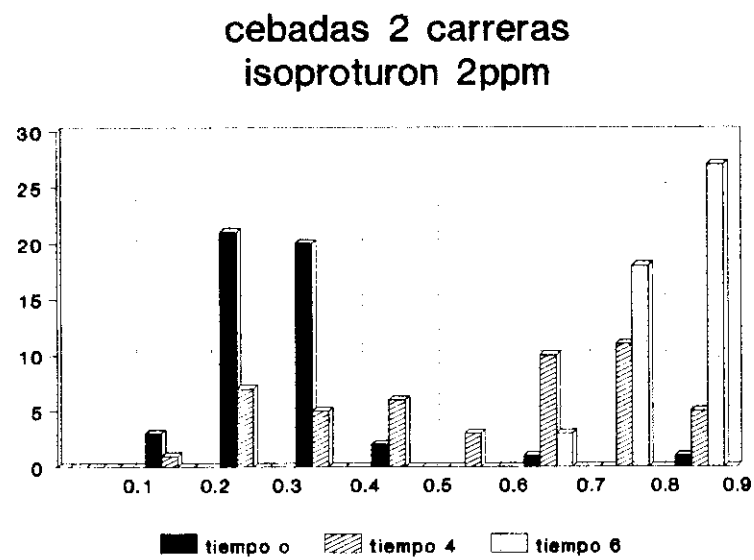


Figura 16: Frecuencia de distribución de los registros de fluorescencia en cebadas de 2 carreras tratadas con isoproturón.

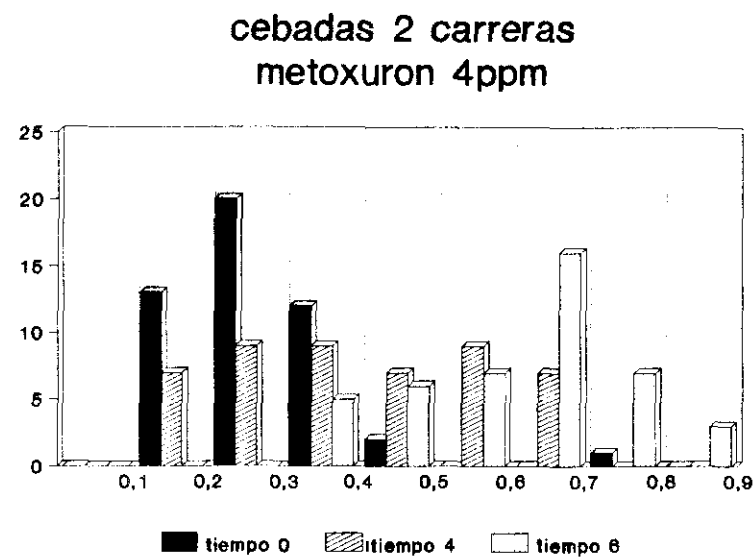
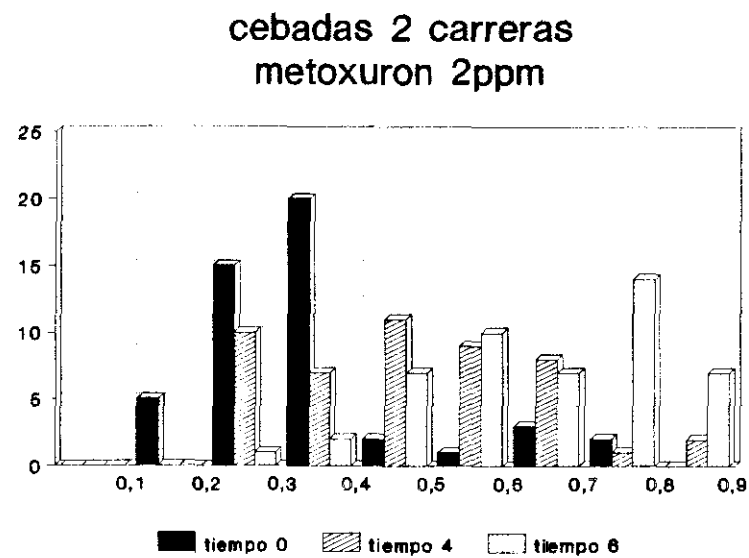


Figura 17: Frecuencia de distribución de los registros de fluorescencia en cebadas de 2 carreras tratadas con metoxurón.

CUADRO 10

Inhibición fotosintética obtenida a T=0, en hojas de cultivares de *H.vulgare* L. (hexasticas), después de 24h de tratamiento con clortolurón, isoproturón y metoxurón.

	TESTIGO		CLORTOLURON				ISOPROTURON				METOXURON			
			2ppm		4ppm		2ppm		4ppm		2ppm		4ppm	
	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}
ALBACETE	0.85	0.011	0.57	0.020	0.39	0.037	0.42	0.015	0.36	0.064	0.50	0.160	0.32	0.025
H.DE GRIGNON	0.83	0.035	0.35	0.030	0.24	0.100	0.31	0.015	0.38	0.055	0.33	0.015	0.35	0.036
BARBARROSA	0.85	0.005	0.27	0.005	0.28	0.005	0.32	0.020	0.31	0.032	0.33	0.055	0.29	0.005
ALSEKAL	0.84	0.015	0.49	0.045	0.29	0.030	0.35	0.011	0.31	0.015	0.35	0.030	0.26	0.010
MONLON	0.85	0.015	0.39	0.014	0.38	0.026	0.33	0.026	0.32	0.026	0.41	0.005	0.39	0.011
BEGOÑA	0.84	0.005	0.42	0.020	0.30	0.005	0.35	0.010	0.30	0.005	0.28	0.005	0.29	0.005
PLAISANT	0.83	0.020	0.32	0.026	0.32	0.020	0.32	0.005	0.36	0.005	0.31	0.011	0.33	0.005
VEGAL	0.85	0.011	0.35	0.011	0.32	0.055	0.42	0.020	0.36	0.011	0.41	0.026	0.39	0.025
DACIL	0.83	0.010	0.40	0.020	0.36	0.010	0.45	0.025	0.36	0.060	0.38	0.035	0.31	0.041
TABAIBA	0.84	0.010	0.41	0.040	0.31	0.025	0.39	0.001	0.39	0.015	0.40	0.035	0.33	0.030
TECLA	0.82	0.010	0.30	0.010	0.38	0.050	0.35	0.026	0.32	0.070	0.40	0.010	0.29	0.030
TINA	0.84	0.005	0.39	0.025	0.36	0.015	0.42	0.020	0.38	0.050	0.51	0.010	0.38	0.015
AURORA	0.84	0.005	0.43	0.005	0.35	0.026	0.40	0.011	0.37	0.056	0.42	0.011	0.36	0.005

Los valores presentados son media de 10 repeticiones.

CUADRO 11

Inhibición fotosintética obtenida a T=4, en hojas de cultivares de *H.vulgare* L. (hexasticas), después de 24h de tratamiento con clortolurón, isoproturón y metoxurón.

	TESTIGO		CLORTOLURON				ISOPROTURON				METOXURON			
	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}
ALBACETE	0.85	0.005	0.75	0.017	0.64	0.050	0.65	0.050	0.62	0.015	0.73	0.010	0.67	0.063
H.DE GRIGNON	0.83	0.015	0.72	0.098	0.66	0.011	0.83	0.011	0.82	0.015	0.74	0.100	0.69	0.150
BARBARROSA	0.85	0.005	0.64	0.110	0.30	0.032	0.42	0.020	0.47	0.260	0.43	0.020	0.41	0.015
ALSEKAL	0.84	0.005	0.82	0.011	0.65	0.037	0.75	0.034	0.68	0.011	0.63	0.025	0.56	0.020
MONLON	0.82	0.010	0.78	0.075	0.74	0.020	0.71	0.026	0.64	0.036	0.74	0.020	0.54	0.078
BEGOÑA	0.83	0.005	0.64	0.020	0.56	0.030	0.44	0.020	0.42	0.032	0.69	0.052	0.54	0.020
PLAISANT	0.84	0.005	0.45	0.040	0.46	0.035	0.73	0.005	0.70	0.010	0.70	0.020	0.45	0.026
VEGAL	0.83	0.010	0.85	0.010	0.80	0.025	0.84	0.010	0.80	0.025	0.82	0.017	0.60	0.046
DACIL	0.84	0.005	0.66	0.035	0.58	0.015	0.84	0.010	0.45	0.005	0.75	0.037	0.54	0.026
TABAIBA	0.82	0.020	0.66	0.005	0.65	0.026	0.84	0.015	0.45	0.083	0.79	0.010	0.62	0.075
TECLA	0.83	0.015	0.84	0.005	0.79	0.050	0.84	0.010	0.84	0.010	0.83	0.010	0.57	0.190
TINA	0.82	0.017	0.84	0.005	0.76	0.070	0.78	0.015	0.68	0.160	0.81	0.026	0.78	0.072
AURORA	0.83	0.005	0.83	0.025	0.74	0.041	0.82	0.032	0.78	0.026	0.82	0.015	0.80	0.020

Los valores obtenidos son media de 10 repeticiones.

CUADRO 12

Inhibición fotosintética obtenida a T=6, en hojas de cultivares de *H.vulgare* L. (hexasticas), después de 24h de tratamiento con clortolurón, isoproturón y metoxurón.

	TESTIGO		CLORTOLURON				ISOPROTURON				METOXURON			
			2ppm		4ppm		2ppm		4ppm		2ppm		4ppm	
	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}
ALBACETE	0.85	0.005	0.83	0.005	0.81	0.025	0.83	0.010	0.83	0.020	0.87	0.045	0.82	0.045
H.DE GRIGNON	0.83	0.011	0.81	0.015	0.83	0.015	0.84	0.025	0.84	0.010	0.82	0.013	0.78	0.032
BARBARROSA	0.85	0.005	0.82	0.010	0.74	0.150	0.82	0.015	0.71	0.026	0.78	0.060	0.44	0.028
ALSEKAL	0.84	0.005	0.83	0.005	0.73	0.040	0.82	0.001	0.78	0.036	0.77	0.055	0.66	0.005
MONLON	0.84	0.011	0.81	0.017	0.83	0.010	0.84	0.015	0.61	0.140	0.83	0.010	0.57	0.030
BEGOÑA	0.84	0.020	0.76	0.001	0.61	0.051	0.69	0.020	0.65	0.260	0.82	0.011	0.64	0.130
PLAISANT	0.84	0.005	0.85	0.010	0.55	0.020	0.83	0.005	0.79	0.040	0.78	0.052	0.54	0.010
VEGAL	0.83	0.015	0.83	0.025	0.80	0.058	0.84	0.011	0.84	0.005	0.78	0.020	0.59	0.020
DACIL	0.86	0.011	0.82	0.020	0.85	0.020	0.83	0.011	0.83	0.005	0.82	0.005	0.86	0.010
TABAIBA	0.85	0.026	0.84	0.025	0.85	0.015	0.84	0.005	0.86	0.010	0.84	0.020	0.86	0.005
TECLA	0.83	0.010	0.84	0.015	0.84	0.011	0.85	0.010	0.85	0.010	0.83	0.017	0.80	0.010
TINA	0.82	0.010	0.84	0.011	0.81	0.025	0.82	0.010	0.85	0.011	0.84	0.015	0.82	0.043
AURORA	0.83	0.020	0.85	0.015	0.80	0.010	0.85	0.010	0.84	0.015	0.84	0.011	0.84	0.010

Los valores presentados son media de 10 repeticiones.

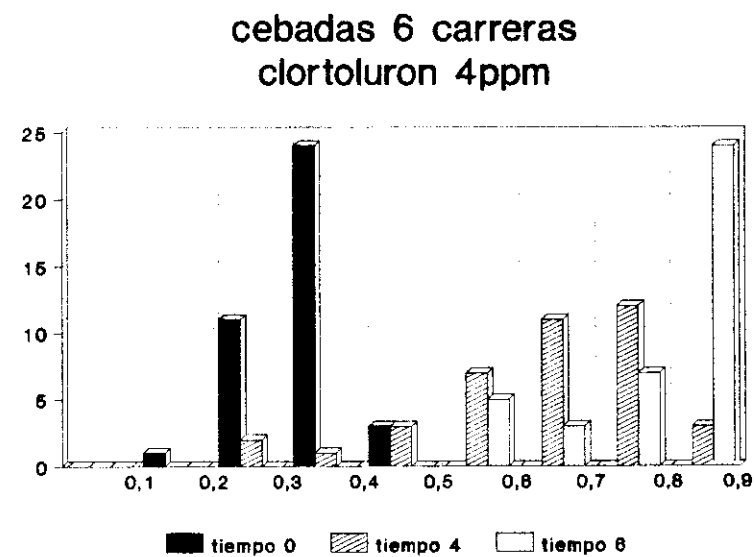
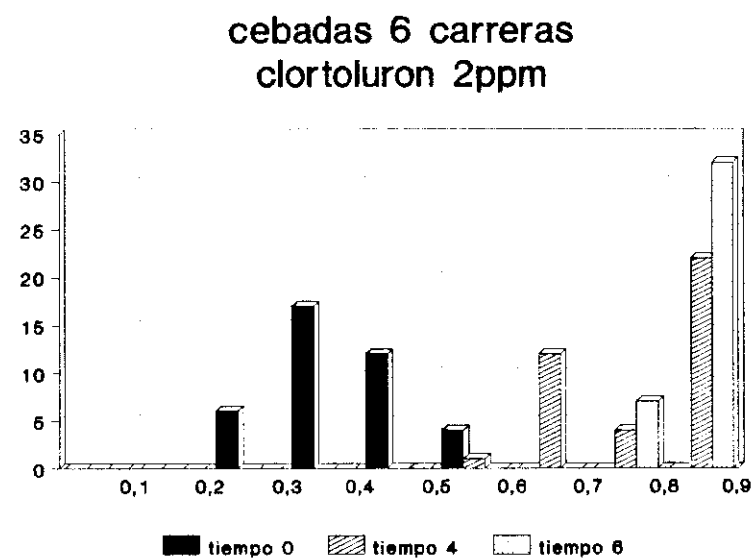


Figura 18: Frecuencia de distribución de los registros de fluorescencia en cebadas de 6 carreras tratadas con clortolurón.

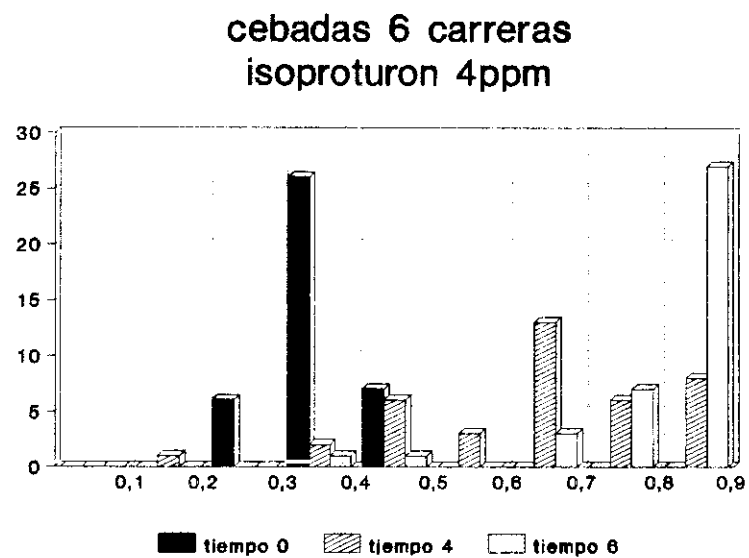
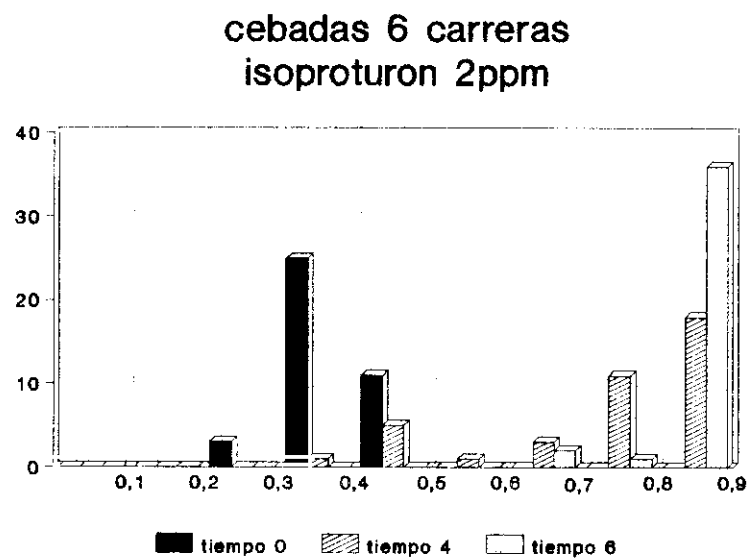


Figura 19: Frecuencia de distribución de los registros de fluorescencia en cebadas de 6 carreras tratadas con isoproturón.

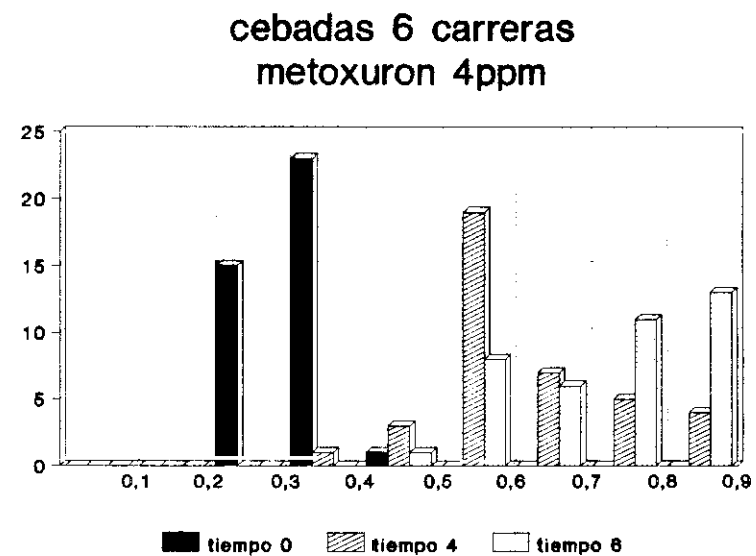
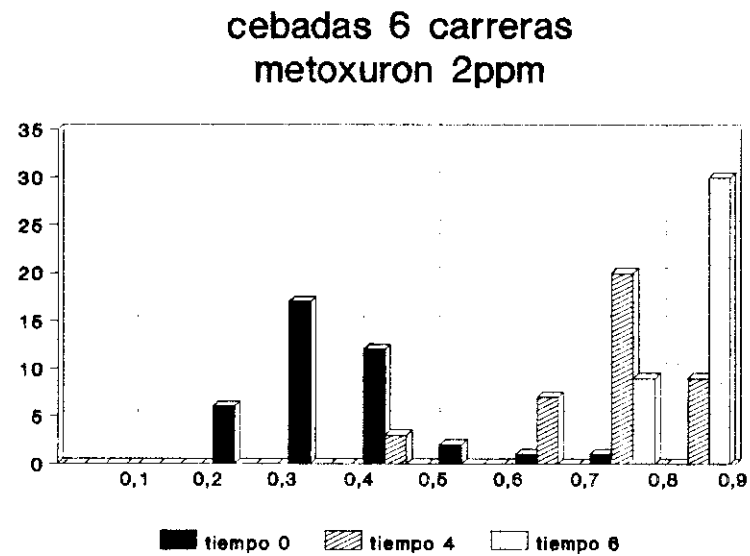


Figura 20: Frecuencia de distribución de los registros de fluorescencia en cebadas de 6 carreras tratadas con metoxurón.

CUADRO 13

Inhibición fotosintética obtenida a T=0, en hojas de triticales, después de 24h de tratamiento con clortolurón, isoproturón y metoxurón.

	TESTIGO			CLORTOLURON					ISOPROTURON					METOXURON			
	\bar{X}	∂n^{-1}		2ppm		4ppm			2ppm		4ppm			2ppm		4ppm	
				\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}		\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}		\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}
CAMARMA	0.83	0.011		0.39	0.180	0.30	0.010		0.26	0.025	0.28	0.015		0.43	0.150	0.26	0.025
TOROTE	0.83	0.023		0.72	0.130	0.40	0.095		0.68	0.170	0.36	0.081		0.82	0.010	0.77	0.020
TAJUÑA	0.85	0.011		0.50	0.250	0.21	0.036		0.20	0.050	0.21	0.010		0.52	0.066	0.31	0.017
BADIEL	0.84	0.015		0.33	0.072	0.33	0.036		0.36	0.045	0.35	0.055		0.34	0.005	0.33	0.025
JUANILLO	0.84	0.015		0.83	0.010	0.82	0.051		0.27	0.025	0.21	0.020		0.63	0.110	0.45	0.220

Los valores presentados son media de 10 repeticiones.

CUADRO 14

Inhibición fotosintética obtenida a T=4, en hojas de triticales, después de 24h de tratamiento con clortolurón, isoproturón y metoxurón.

	TESTIGO		CLORTOLURON				ISOPROTURON				METOXURON			
	\bar{X}	∂n^{-1}	2ppm		4ppm		2ppm		4ppm		2ppm		4ppm	
			\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}
CAMARMA	0.84	0.011	0.84	0.026	0.83	0.030	0.42	0.075	0.36	0.015	0.83	0.005	0.85	0.026
TOROTE	0.84	0.015	0.83	0.023	0.84	0.020	0.51	0.100	0.34	0.080	0.84	0.000	0.83	0.020
TAJUÑA	0.84	0.015	0.84	0.020	0.82	0.017	0.65	0.150	0.31	0.011	0.83	0.010	0.84	0.020
BADIEL	0.85	0.020	0.43	0.030	0.33	0.045	0.44	0.055	0.27	0.075	0.43	0.030	0.38	0.020
JUANILLO	0.83	0.023	0.84	0.005	0.84	0.011	0.34	0.047	0.46	0.060	0.47	0.037	0.33	0.050

Los valores presentados son media de 10 repeticiones.

CUADRO 15

Inhibición fotosintética obtenida a T=6, en hojas de triticales, después de 24h de tratamiento con clortolurón, isoproturón y metoxurón.

	TESTIGO		CLORTOLURON				ISOPROTURON				METOXURON			
			2ppm		4ppm		2ppm		4ppm		2ppm		4ppm	
	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}	\bar{X}	∂n^{-1}
CAMARMA	0.84	0.020	0.83	0.005	0.84	0.026	0.61	0.100	0.69	0.120	0.84	0.015	0.84	0.030
TOROTE	0.83	0.025	0.84	0.005	0.84	0.010	0.73	0.110	0.54	0.250	0.84	0.020	0.84	0.015
TAJUÑA	0.84	0.011	0.83	0.005	0.85	0.028	0.84	0.041	0.84	0.017	0.84	0.015	0.83	0.015
BADIEL	0.84	0.005	0.44	0.030	0.31	0.015	0.61	0.020	0.55	0.076	0.45	0.032	0.38	0.030
JUANILLO	0.83	0.020	0.83	0.015	0.82	0.051	0.84	0.005	0.84	0.036	0.84	0.005	0.84	0.020

Los valores presentados son media de 10 repeticiones.

CAPITULO 4. RESPUESTA EN PLANTA ENTERA

4.1. INTRODUCCION

Los test biológicos o bioensayos, son definidos por Streibig (1988) como experimentos encaminados a estimar la potencia de un herbicida analizando las reacciones que siguen a su aplicación en un organismo vivo.

Los bioensayos constituyen un método adecuado para evaluar el efecto que produce la presencia de herbicidas en el vegetal, siendo los procedimientos físicos y químicos más adecuados para la identificación de estos productos (Neururer 1975).

Puesto que el crecimiento vegetal se encuentra directamente influenciado por las condiciones medioambientales, tales como temperatura, humedad, iluminación etc..., resulta necesario controlar el mayor número posible de variables en cada uno de los experimentos.

Según Santelmann (1977), existen dos tipos de respuestas medibles para evaluar el efecto que un herbicida produce en la planta:

- a) Respuesta de una parte de la planta: Tales como clorosis o necrosis, multiplicación de células, elongación de raíces etc..
- b) Respuesta de la totalidad de la planta: Evaluando la inhibición del crecimiento mediante variables como peso fresco o peso seco.

La evaluación de la variable "peso seco" resulta ser un método adecuado y cómodo de estimación empleado por numerosos autores (Phillips 1959; Goodin y Chang, 1969).

Algunos autores expresan la sensibilidad de una planta a un herbicida en términos similares a los empleados en estudios de toxicología animal. Con estos valores se representa la concentración requerida de herbicida para inhibir el crecimiento de una planta al 50%, denominándose LD50, GR50 o ED50 (Sheets 1959; Upchurch y Mason, 1962).

Para la realización de ensayos biológicos en laboratorio, con herbicidas de absorción radicular, es posible utilizar diferentes sustratos tales como tierra, arena, vermiculita, papel de filtro o sustrato líquido. El empleo de un sustrato líquido es utilizado por muchos autores (Parker 1965; Truelove et al. 1974; Lehoczki et al. 1984) ya que resulta adecuado para facilitar la disponibilidad del herbicida por el sistema radicular de la planta.

La respuesta al herbicida clortolurón, de los cultivares y malas hierbas elegidos, se estudia mediante la utilización de ensayos biológicos realizados en sustrato líquido y considerando para la evaluación del efecto la variable "peso seco".

4.2. MATERIAL Y METODOS

Se utilizan semillas de los cultivares de trigo blando 'Castan' , 'Recital' y 'Anza', del cultivar de trigo duro 'Roqueño', del cultivar de cebada 'Barbarrosa' y de los triticales 'Tajuña' y 'Badiel', así como cariósides de las malas hierbas *B. diandrus* y *A. sterilis ssp ludoviciana*.

Experimento 1

Las plantas crecen en cultivo hidropónico durante 6 días, como se detalla en 2.6.1. En el momento en que las plantas se encuentran en el estado 12 (Tottman 1987), se realiza el tratamiento herbicida con clortolurón a 0.5-1-2-4 y 6 ppm, durante 24h. El número de plantas por vaso es de cinco, efectuando 10 repeticiones por tratamiento.

Transcurridas 24h, se corta la parte aérea de 5 de las 10 repeticiones empleadas, procediendo a su secado. Seis días más tarde se cortan las repeticiones restantes.

La cámara empleada poseía alternancia de 16h. luz y 8h. oscuridad, con intensidad luminosa de $100 \mu\text{E m}^{-1}\text{s}^{-2}$ y temperaturas de $24 \pm 1^\circ \text{C}$ max. y $16 \pm 1^\circ \text{C}$ min.

La relación $P_6 - P_0$, se emplea para evaluar el efecto producido por el herbicida, obviándose así las diferencias de crecimiento anteriores a su aplicación, siendo:

P_6 = Peso seco al sexto día de retirar el tratamiento

P_0 = Peso seco el mismo día de retirar el tratamiento

Los datos se analizan mediante el análisis factorial de la varianza según el modelo $Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \mu_k(j)$ (Sokal y Rohlf, 1981). Posteriormente se utiliza el test de Duncan (1955) para la comparación de las medias obtenidas.

Experimento 2

Se sigue idéntico procedimiento que en el experimento anterior, realizando en este caso los tratamientos con clortolurón a las dosis de :

- a) 0 - 2 - 4 - 6 - 8 y 10 ppm. para 'Castan', 'Roqueño' y 'Tajuña'
- b) 0 - 0.25 - 0.5 - 1 - 2 y 4 ppm. para 'Barbarrosa', 'Recital', 'Badiel', *B. diandrus* y *A. sterilis ssp. ludoviciana*
- c) 0 - 1 - 2 - 4 - 6 y 8 ppm. para 'Anza'

Las condiciones de la cámara de crecimiento son iguales al experimento anterior, así como el empleo de la relación $P_6 - P_0$ para evaluar el efecto producido por el herbicida.

La sensibilidad de los diferentes cultivares de cereales y malas hierbas, se analizan tomando la inhibición del incremento de peso seco respecto al testigo, mediante el método de análisis Probit (Finney 1971), para la inhibición del 50% de peso seco (LD50). Los límites fiduciales se calculan al 95% de confianza, exceptuando en *A. sterilis ssp. ludoviciana* que se hizo al 90%.

4.3.RESULTADOS Y DISCUSION

El Cuadro 16 muestra los valores de los incrementos de peso seco ($P_6 - P_0$) de la parte aérea de las plántulas, obtenidos en los tratamientos con clortolurón en los distintos cultivares de los cereales y de las malas hierbas estudiados.

En estos resultados podemos observar que el efecto del clortolurón divide al diverso material ensayado en tres grupos:

1. Un primer grupo, en el que se encuentran los cultivares 'Castan' (trigo blando) y 'Tajuña' (triticale), en los que ninguna de las dosis del herbicida empleadas les afecta significativamente.

2. Un segundo grupo, en el que el clortolurón comienza a afectar significativamente en algunas de las dosis ensayadas, y en el que se agrupan los cultivares 'Roqueño' (trigo duro), que a dosis de 4ppm muestra una reducción significativa en el incremento de peso de un 40%, 'Anza' (trigo blando), con una reducción significativa a 2ppm de clortolurón del 35% y la cebada 'Barbarrosa' que es afectada significativamente a la dosis de 1 ppm, con una reducción del 35% del incremento del peso seco.

3. Un tercer grupo, en el que se encuentran 'Badiel' (triticale) y 'Recital' (trigo blando), así como las malas hierbas *A.sterilis ssp. ludoviciana* y *B.diandrus*, afectadas significativamente a todas las dosis ensayadas del herbicida clortolurón.

Esta respuesta al herbicida clortolurón, se ha relacionado en ensayos análogos, pero utilizando la variable peso seco final, con cultivares de trigo blando de los que se conocía la sensibilidad de este herbicida en campo, en Francia (Cadahia et al. 1982) y en España (Sixto y García-Baudín, 1988).

Los autores citados estiman que la tolerancia de los cultivares en cereales al clortolurón se puede considerar cuando estos no son afectados significativamente a la dosis de 2 ppm del herbicida, por lo que según nuestros resultados serán tolerantes al herbicida los cultivares 'Castan' (trigo blando), 'Tajuña' (triticale) y 'Roqueño' (trigo duro), presentando el resto de cultivares y malas hierbas una mayor o menor sensibilidad.

En un segundo experimento, cuyos resultados se presentan en el Cuadro 17, se estudia la sensibilidad de las diferentes especies, estimando las dosis del herbicida clortolurón necesarias para reducir el 50% del incremento de peso seco ($P_6 - P_0$) de la parte aérea de las plántulas (LD50), calculándose los límites fiduciales con un 95% de confianza.

En este cuadro podemos observar que el material vegetal estudiado se puede dividir, en relación a la respuesta al clortolurón, en tres grupos. El primero de ellos agrupa a los cultivares 'Castan' y 'Anza' (trigos blandos), 'Roqueño' (trigo duro) y 'Tajuña' (triticale), en los que la dosis letal 50 varía entre 5,5 y 9,6; un segundo grupo que incluye el cultivar de cebada 'Barbarrosa' y la mala hierba *B. diandrus*, muestran un LD50 de 1,3 y 2,3 respectivamente, agrupándose el cultivar de trigo blando 'Recital', el triticale 'Badiel' y la mala hierba *A. sterilis ssp. ludoviciana*, en un tercer grupo con

LD50, alrededor de 0,6.

A la vista de estos resultados comparamos las sensibilidades de los cultivares y malas hierbas estudiados, para una reducción del 50% (LD50), calculando las rectas de regresión Probit-logaritmo de las dosis paralelas, representadas gráficamente en la Figura 21, en la que se comprueba la existencia de los tres grupos citados anteriormente.

La tolerancia de los cultivares del primer grupo es de 4 a 7 veces mayor que la de la cebada 'Barbarrosa' y de 9 a 16 veces mayor que la mostrada por los cultivares 'Recital' (trigo blando) y 'Badiel' (triticale), lo que sugiere una gran variabilidad en la respuesta de los cereales al clortolurón.

Incluso entre cultivares pertenecientes a la misma especie, se pone de manifiesto esta gran variabilidad, puesto que en *T.aestivum* el cultivar 'Castan' tolera 16 veces más, a este herbicida, que el cultivar 'Recital' y en los triticales, el cultivar 'Tajuña' tolera más de 9 veces que el cultivar 'Badiel'.

Respecto a las malas hierbas, observamos que *B.diandrus* tolera casi 4 veces más el clortolurón que *A.sterilis ssp. ludoviciana*, así como los cultivares sensibles a este herbicida 'Recital' (trigo blando) y 'Badiel' (triticale), siendo semejante su tolerancia a la mostrada por la cebada 'Barbarrosa'.

La mala hierba *A.sterilis ssp. ludoviciana*, considerada como sensible a este herbicida, tiene una respuesta similar a los cultivares 'Recital' (trigo blando) y

'Badiel'(triticale).

Por lo expuesto, podemos sugerir que con el empleo de la variable "incremento de peso seco (P_6-P_0)" ,la dosis de 1 ppm de clortolurón es suficiente para diferenciar cultivares tolerantes y sensibles a este herbicida, en comparación con la dosis de 2ppm, necesaria cuando se utiliza la variable "peso seco final (P_6)" descrita anteriormente (Cadahia et al. 1982; Sixto y García-Baudín, 1988).

El empleo de esta variable "incremento de peso seco (P_6-P_0)" es más estricta para determinar selectividad varietal en cereales al clortolurón que la variable "peso seco final (P_6)", lo que parece lógico puesto que estudia el efecto del herbicida sobre el crecimiento real de la planta.

Asimismo, se comprueba la gran diferencia de tolerancia al clortolurón en los diferentes cultivares de cereales, diferencias que se detectan en el interior de una misma especie, encontrándose cultivares de trigo blando y triticales con una sensibilidad a este herbicida semejante a la de *A. sterilis ssp. ludoviciana*, mala hierba sensible a este herbicida.

Se confirma la diferencia de sensibilidad entre las malas hierbas estudiadas *A.sterilis ssp. ludoviciana* y *B.diandrus*, sensible la primera y tolerante la segunda al clortolurón en campo.

El control de *A.sterilis ssp. ludoviciana* es posible con el herbicida clortolurón en cereales, si bien es necesario conocer la respuesta al herbicida de cada cultivar

debido a que se encuentran cultivares con una sensibilidad a la mostrada por esta mala hierba.

La utilización de un método simple como el expuesto, podrá servir para evaluar cultivares tolerantes a este herbicida, y evitar los daños producidos a los cereales por el clortolurón, como asimismo para ser utilizado por los mejoradores de cereales en la consecución de cultivares tolerantes a este herbicida.

CUADRO 16

Valores de los incrementos de peso seco en parte aérea, en cultivares y malas hierbas tratados con clortolurón.

	<i>T.aestivum</i> CASTAN	<i>Triticale</i> TAJUÑA	<i>T.turgidum</i> <i>var.durum</i> ROQUEÑO	<i>T.aestivum</i> ANZA	<i>H.vulgare</i> BARBARROSA	<i>Triticale</i> BADIEL	<i>T.aestivum</i> RECITAL	<i>B.diandrus</i>	<i>A.sterilis</i> <i>ssp.ludoviciana</i>
0ppm	131 a	146 a	201 a	141 a	195 a	131 a	132 a	82 a	100 a
0.5ppm	132 a	132 a	191 a	141 a	161 ab	82 b	82 b	57 b	45 b
1ppm	134 a	137 a	189 a	128 a	126 b	54 bc	69 b	58 b	28 bc
2ppm	124 a	132 a	189 a	91 b	81 c	48 c	39 c	60 b	18 c
4ppm	123 a	116 a	116 b	74 bc	71 c	9 d	10 d	31 c	11 c
6ppm	95 a	114 a	110 b	68 c	66 c	8 d	6 d	32 c	8 c

Los valores, expresados en gramos, son media de 5 repeticiones.

Las medidas con la misma letra no difieren significativamente al 1%, dentro del mismo cultivar.

CUADRO 17

Sensibilidad de los cultivares y malas hierbas a clortolurón³.

ESPECIES		RECTA DE REGRESION	LD50	LIMITES FIDUCIALES (al 95%)
<i>T.aestivum</i>	CASTAN	$y=3,1356+1,8961x$	9,6209	6,6191;12,7337
<i>T.turgidum var.durum</i>	ROQUEÑO	$y=2,1516+3,0665x$	8,4888	7,6643;9,6694
<i>T.aestivum</i>	ANZA	$y=2,1123+3,6535x$	6,1710	4,9588;8,6078
<i>Triticale</i>	TAJUÑA	$y=2,9459+2,7862x$	5,4601	4,5567;6,5259
<i>B.diandrus</i>		$y=4,6363+1,0279x$	2,2579	1,3088;3,6103
<i>H.vulgare</i>	BARBARROSA	$y=4,6901+2,6814x$	1,3048	1,0129;1,7069
<i>Triticale</i>	BADIEL	$y=5,4394+2,1814x$	0,6296	0,3318;0,9940
<i>A.sterilis</i> <i>ssp.ludoviciana</i> ⁴		$y=5,4387+1,9532x$	0,5961	0,2673;0,9851
<i>T.aestivum</i>	RECITAL	$y=5,5933+2,5233x$	0,5819	0,4020;0,7845

³ Valores obtenidos mediante el método Probit.

⁴ L.fiduciales al 90% de probabilidad.

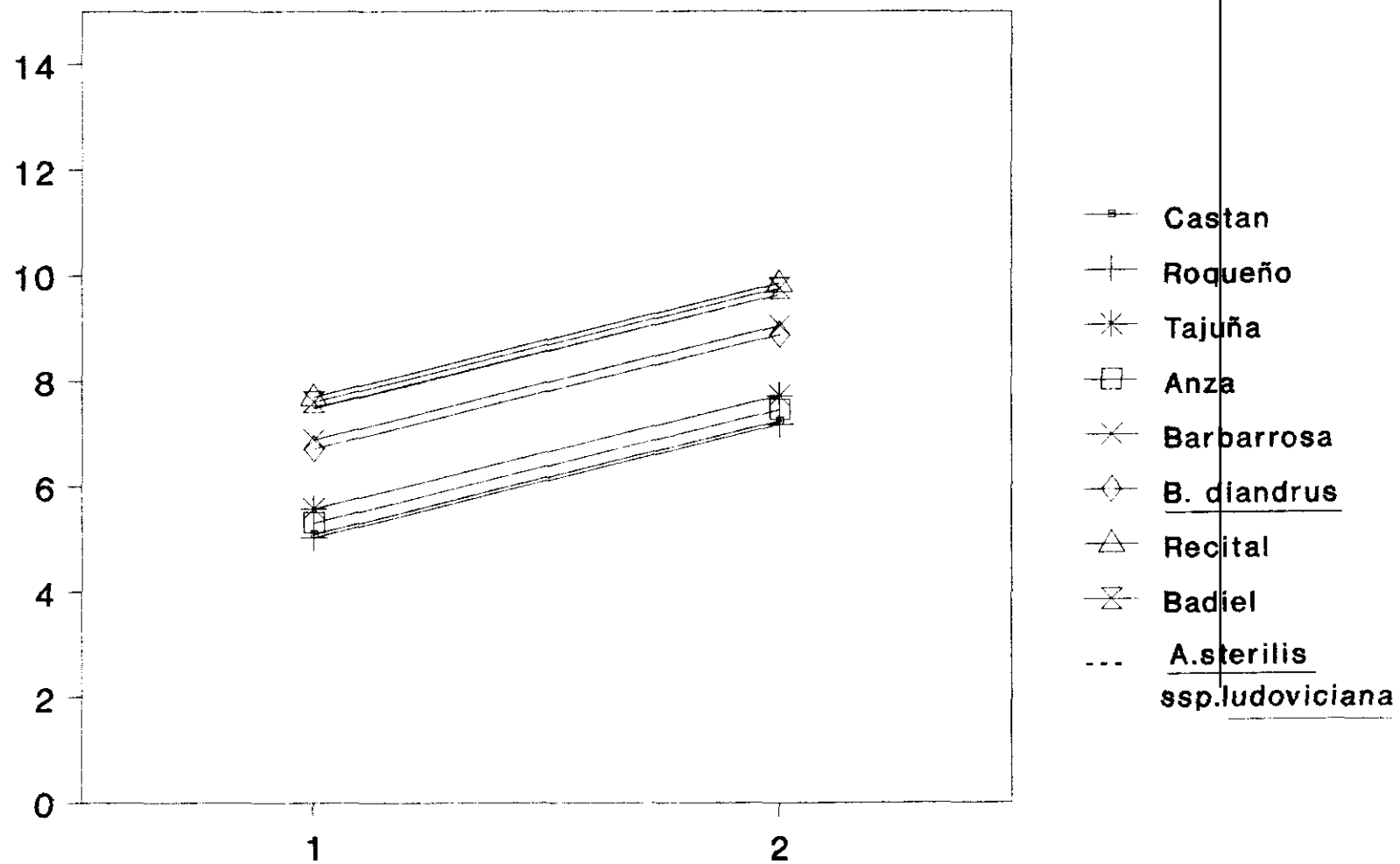


Figura 21: Representación gráfica de las rectas de regresión paralelas.

CAPITULO 5. ACTIVIDAD FOTOSINTETICA

5.1.INTRODUCCION

El análisis de las cinéticas de la fluorescencia clorofílica, constituyen una herramienta de trabajo adecuada cuando la cadena transportadora de e^- se ve interrumpida por la presencia de herbicidas inhibidores del PSII. El procedimiento de obtención de las medidas resulta útil por su rapidez y la no destrucción del material vegetal (Zankel y Kok, 1972; Richard et al. 1983).

La inhibición de la bajada lenta de fluorescencia $P \rightarrow S$ por compuestos inhibidores, ha sido utilizada en estudios de destoxificación de herbicidas (Ducruet y Gasquez, 1978; Daniell et al. 1981); siendo empleada en este trabajo en el Capítulo 3. No obstante esta fase puede verse afectada por factores redox y no redox (Papageorgiou 1975; Lavorel y Etienne, 1977), dificultando así la obtención de parámetros cuantitativos.

Un segundo camino para cuantificar la inhibición del PSII, provocada por herbicidas inhibidores, consiste en aprovechar las primeras fases $O \rightarrow I \rightarrow P$ del incremento de fluorescencia que reflejan esencialmente el paso $Q_A \rightarrow Q_B$ (Brewer et al. 1979; Cadahia et al 1982; Mona et al.1991), si bien el procedimiento de obtención de estas medidas resulta menos asequible por la necesidad de un equipamiento más complejo.

La destoxificación del herbicida, que puede provenir de la rotura del herbicida o de otros procesos de inactivación, ha sido investigada a través del estudio de la fase $I \rightarrow P$ de fluorescencia, ocurriendo ésta en cultivares tolerantes o intermedios, mientras

que no es observada en cultivares sensibles (Leroux 1982; Van Leewen y Van Oorschot, 1976; Cadahia et al. 1982).

Para el estudio de la cinética de destoxificación del herbicida clortolurón, en los cultivares seleccionados, hemos utilizado la fase rápida $I \rightarrow P$ de fluorescencia, detectable con un registrador de respuesta rápida.

5.2. MATERIAL Y METODOS

Se emplean semillas de los cultivares de trigo blando 'Castan', 'Recital' y 'Anza', del cultivar de trigo duro 'Roqueño', del cultivar de cebada 'Barbarrosa' y de los triticales 'Tajuña' y 'Badiel' así como cariósides de las malas hierbas gramíneas *B.diandrus* y *A. sterilis ssp. ludoviciana*.

Las plantas crecen en cultivo hidropónico durante siete días en cámara con $100 \mu\text{Em}^{-1} \text{ s}^{-2}$ de intensidad luminosa, alternancia de 16 h luz y 8 h oscuridad, y temperatura de $24 \pm 1^\circ\text{C}$ en luz y $16 \pm 1^\circ\text{C}$ en oscuridad; realizándose el tratamiento herbicida con clortolurón a dosis de 2 y 4 ppm durante 24 h.

Nada más retirar el tratamiento ($T=0$) se comienza a obtener los registros de fluorescencia, usando un detector Hansatech LD1 asociado a un programa de computador similar al descrito por Ducruet et al. (1984) y que se detalla en 2.7.2.

Se realizan 10 medidas por planta en cada tratamiento, así como 10 medidas de plantas control no sometidas al herbicida. Las detecciones se efectúan a tiempos 0, 2, 4 y 6 desde la retirada de los tratamientos.

La estimación cuantitativa de la inhibición se determina por el ratio FI/FP como señala Cadahia et al. (1982), analizando los datos mediante el análisis factorial de la varianza según el modelo $Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \mu_{k(ij)}$ (Sokal y Rohlf, 1981). El test de Duncan (1955) se utilizó para la comparación de las medias obtenidas.

Así mismo se determina el porcentaje de inhibición de los centros del PSII bloqueados por el herbicida mediante la ecuación $(\Delta F - F_0) \times 100 / 1 - \Delta F_0$ (Ponte-Freitas et al. 1991) donde F es el radio F_I/F_P y F_0 el valor correspondiente en plantas control no sometidas a tratamiento.

5.3.RESULTADOS Y DISCUSION

El Cuadro 18 muestra las medidas de fluorescencia clorofílica, obtenidas mediante la relación I/P, después del tratamiento con clortolurón, a 2 y 4ppm, en los distintos cultivares de cereales y malas hierbas estudiadas. Igualmente se presentan los coeficientes de variación ($\sigma/\Delta F_o$) en plantas control no sometidas a tratamiento.

Los datos presentan pocas variaciones en los radios I/P de plantas control, tanto de los cultivares como de las malas hierbas, siendo los coeficientes de variación menores del 10% lo que permite la obtención de medidas lo suficientemente precisas.

En los cultivares de trigo blando 'Recital' y 'Anza', la cebada 'Barbarrosa' y los triticales 'Tajuña' y 'Badiel' así como en las malas hierbas *B.diandrus* y *A.sterilis ssp. ludoviciana* se puede observar, una vez finalizado el tratamiento de 24h (T=0) con clortolurón 2ppm, que éste se ha absorbido por la raíz y ha alcanzado el lugar de acción, lo que se aprecia por la inhibición fotosintética reflejada en el aumento de la fluorescencia de plantas tratadas respecto a sus testigos, inhibición que es altamente significativa (Cuadro 18).

El cociente I/P1 indica un bloqueo del 100% de los centros del PSII, (Cuadro 19).

En el caso de los cultivares 'Castan' (trigo blando) y 'Roqueño' (trigo duro), se observa al finalizar el tratamiento (T=0) , una inhibición parcial de la fotosíntesis presentando valores cercanos al control, con un 38% y 23% respectivamente de centros

bloqueados, si bien 'Castan' difiere significativamente de su testigo (Cuadro 19).

La menor inhibición fotosintética detectada en estos cultivares, puede indicar una menor absorción del herbicida o la inactivación del mismo en la planta, incapacitándola para alcanzar el lugar de acción en una concentración suficiente para ser detectada.

Según Ducruet et al. (1984), la fracción biológicamente activa de herbicida, detectada por técnicas de fluorescencia, puede ser menor que la cantidad de herbicida presente, debido a que parte de él puede verse inactivado por partición o adsorción en los tejidos. Ello, puede explicar las diferencias cuantitativas observadas entre las detecciones de fluorescencia y las detecciones bioquímicas del herbicida.

A lo largo del periodo de ensayo, es posible observar, que el efecto de 2ppm de clortolurón divide al material estudiado en dos grupos:

Un primer grupo, en el que se encuentran los cultivares de trigo blando 'Castan' y 'Anza', el trigo duro 'Roqueño' y el triticale 'Tajuña' así como la mala hierba *B.diandrus* en el que para la dosis aplicada (2ppm), se produce una disminución progresiva de la fluorescencia emitida por las hojas, llegando al sexto día a ser similar a la detectada en sus correspondientes controles; si bien esta se produce más rápidamente en 'Castan', 'Roqueño' y 'Tajuña'.

Por el contrario, un segundo grupo donde se incluyen el trigo blando 'Recital', el triticale 'Badiel', la cebada 'Barbarrosa' y la mala hierba *A.sterilis ssp. ludoviciana*,

mantienen la inhibición a lo largo del ensayo, inhibición que difiere significativamente respecto a sus controles.

No obstante, se observa, que esta inhibición es mayor en el caso de 'Recital', 'Badiel' y *A.sterilis ssp. ludoviciana*, donde el % de centros del PSII bloqueados por el herbicida es del 81,93 y 97% respectivamente, frente a 'Barbarrosa' que muestra un 56% de centros bloqueados (Cuadro 19).

Cuando el tratamiento se realizó con 4ppm de clortolurón, se observa que en todos los cultivares de los cereales y malas hierbas ensayados, el herbicida, se ha absorbido por la raíz y ha alcanzado el lugar de acción, produciéndose una inhibición de la fotosíntesis que se refleja en un considerable aumento de la fluorescencia emitida por las hojas respecto a sus controles, inhibición que en todos los casos es altamente significativa (Cuadro 18).

La evolución seguida por el material de ensayo frente a la dosis más alta de aplicación, no es igual en todos los casos, pudiendo diferenciarse dos grupo claros.

El primero de ellos incluye los cultivares de trigo blando 'Castan' y 'Anza', el trigo 'Roqueño', el triticales 'Tajuña' y la mala hierba *B.diandrus*, en los que se produce una disminución progresiva de la fluorescencia emitida por las hojas, llegando a T=6 a no diferir significativamente de la fluorescencia detectada en plantas testigo (Cuadro 18).

Sin embargo, es posible apreciar una mayor rapidez en la destoxificación del

clortolurón (4ppm), en los cultivares 'Castan' y 'Roqueño', puesto que la recuperación se produce al segundo día de retirar el tratamiento (T=2) , presentando tan solo un 0 y 4% respectivamente de centros del PSII bloqueados por el herbicida (Cuadro 19).

Un segundo grupo incluye los cultivares 'Recital' (trigo blando), 'Barbarrosa' (cebada), 'Badiel' (triticale) y la *A.sterilis ssp. ludoviciana*, en los que se mantiene una inhibición de la fotosíntesis a lo largo del periodo de ensayo que es significativa en relación a sus testigos (Cuadro 18).

Esta inhibición es, no obstante, mucho mayor en los cultivares 'Recital', 'Badiel' y *A.sterilis ssp. ludoviciana*, presentando valores de 100,95 y 100% respectivamente de centros bloqueados, frente a el cultivar de cebada 'Barbarrosa' que muestra un 61%.

De la observación de los resultados, se desprende que los coeficientes de variación observados son similares a los obtenidos por Cadahia et al. (1982) y Ducruet (1983), permitiendo la obtención de medidas suficientemente precisas.

La recuperación de la fase termal I/P, resultado de la reapertura de los centros del PSII, sucede para algunos cultivares de cereales y de malas hierbas estudiadas y no para otros, hecho este que resulta concordante con los resultados obtenidos cuando la variable a considerar fue el incremento de peso seco. La buena correlación existente entre los ensayos de fluorescencia clorofílica con la de susceptibilidad varietal a clortolurón esta descrita en cultivares de trigo por Leroux (1982) y Cadahia et al. (1982).

Incluso entre cultivares que pertenecen a la misma especie, se pone de manifiesto una diferente capacidad de destoxificar el herbicida clortolurón, ya que en *T.aestivum* el cultivar 'Castan' destoxifica rápidamente sin que ésta se produzca en el cultivar 'Recital', siendo esto similar a lo descrito por Leroux (1982) en cultivares de esta especie tratados con clortolurón.

La diferente capacidad para destoxificar este herbicida, se observa también entre triticales, como lo demuestra la diferente capacidad observada entre 'Tajuña' y 'Badiel', hecho este del que no conocemos referencias.

La tolerancia mostrada por los cultivares 'Castan' y 'Roqueño' parece no justificarse solo por la destoxificación del herbicida, teniendo que considerar que otros procesos tales como diferencias de absorción, translocación o inactivación del producto puedan estar implicados, impidiendo que el herbicida alcance el sitio de acción en concentración suficiente, ya que la emisión de fluorescencia a $T=0$ fué muy inferior al del resto de los cultivares.

El cultivar tolerante 'Tajuña', mostró inhibición total a $T=0$, lo que sugiere que su tolerancia se deba a procesos de degradación del herbicida.

CUADRO 18

Inhibición fotosintética¹, según el valor FI/FP, en cultivares y malas hierbas después de 24h de tratamiento con clortolurón.

ESPECIES		Coeficientes de variación	CONTROL (Medias I/P)				2ppm (Medias I/P)				4ppm (Medias I/P)				
			$\partial/\Delta F_0$	T=0	T=2	T=4	T=6	T=0	T=2	T=4	T=6	T=0	T=2	T=4	T=6
<i>T.aestivum</i>	CASTAN	6.2%	0.48a	0.48a	0.54a	0.55a	0.68b	0.49a	0.55a	0.54a		0.83c	0.48a	0.53a	0.55a
<i>T.aestivum</i>	RECITAL	3.9%	0.45a	0.49a	0.48a	0.51a	0.99c	0.99c	0.99c	0.91b		1c	1c	0.99c	0.91b
<i>T.aestivum</i>	ANZA	2.1%	0.50a	0.53a	0.54a	0.53a	0.92f	0.80d	0.57b	0.53a		0.95f	0.85d	0.62c	0.53a
<i>T.turgidum</i> <i>var.durum</i>	ROQUEÑO	10%	0.43a	0.47a	0.54a	0.54a	0.57ab	0.49a	0.54a	0.54a		0.72b	0.48a	0.55a	0.55a
<i>H.vulgare</i>	BARBARROSA	6.6%	0.51a	0.54ab	0.55b	0.54ab	1e	0.99e	0.90d	0.82c		1e	1e	1e	0.83c
<i>Triticale</i>	TAJUÑA	8.5%	0.47a	0.53b	0.53b	0.58cd	0.99f	0.55bc	0.55bc	0.57cd		1f	0.96e	0.60d	0.60d
<i>Triticale</i>	BADIEL	6.9%	0.51a	0.55b	0.57b	0.57b	1c	1c	0.99c	0.97c		1c	1c	1c	0.98c
<i>B.diandrus</i>		0.9%	0.52a	0.53a	0.53a	0.53ab	1e	0.71d	0.62c	0.56b		1e	0.98e	0.63c	0.60b
<i>A.sterilis</i> ssp. <i>ludoviciana</i>		7.5%	0.55a	0.58ab	0.62b	0.61b	1c	1c	1c	0.99c		1c	1c	1c	0.99c

¹Las medias con la misma letra no difieren significativamente al 1% dentro de cada cultivar.

CUADRO 19

Porcentajes de inhibición del PSII en cultivares y malas hierbas.¹

		2ppm				4ppm			
		T=0	T=2	T=4	T=6	T=0	T=2	T=4	T=6
<i>T.aestivum</i>	CASTAN	38%	2%	2%	0%	67%	0%	0%	0%
<i>T.aestivum</i>	RECITAL	100%	98%	98%	81%	100%	100%	100%	100%
<i>T.aestivum</i>	ANZA	84%	57%	6%	0%	90%	66%	17%	0%
<i>T.turgidum</i> <i>var. durum</i>	ROQUEÑO	23%	4%	0%	0%	50%	4%	2%	0%
<i>H.vulgare</i>	BARBARROSA	100%	100%	77%	56%	100%	100%	100%	61%
<i>Triticale</i>	TAJUÑA	100%	4%	4%	0%	100%	74%	14%	2%
<i>Triticale</i>	BADIEL	100%	100%	100%	93%	100%	100%	100%	95%
<i>B.diandrus</i>		100%	42%	19%	0%	100%	95%	21%	0%
<i>A.sterilis</i> <i>ssp. ludoviciana</i>		100%	100%	100%	97%	100%	100%	100%	100%

¹ Los porcentajes se determinan mediante la ecuación $\Delta F - \Delta F_0 \times 100 / 1 - \Delta F_0$, donde $\Delta F = FI/FP$ y ΔF_0 =valores control.

CAPITULO 6
NIVELES DE HERBICIDA EN PLANTA

6.1. INTRODUCCION

El estudio de los residuos de herbicidas derivados de la urea ha sido abordado mediante diferentes métodos analíticos, como son el análisis colorimétrico después de la hidrólisis a anilina y su posterior diazotación (Bleidner et al. 1954), la cromatografía de líquidos de alta eficacia (HPLC) con detector ultravioleta (UV) (Lawrence y Laver, 1975), la cromatografía en capa fina (TLC) con la utilización de diferentes reveladores (Smith y Lord, 1975; Abbot et al. 1967), o la cromatografía gaseosa (Only et al. 1968; Grob 1981).

Los métodos de cromatografía gaseosa son en general preferidos para el análisis de trazas, surgiendo algunos problemas en la determinación directa de fenilureas debido a su inestabilidad térmica. Se ha propuesto obtener derivados de estos compuestos, principalmente alquilicos, como fórmula para evitar la descomposición térmica (Lawrence y Laver, 1975; Ogierman 1985).

A pesar de ello, la determinación directa por cromatografía de gases es ampliamente utilizada (Katz y Richard, 1969; McKone 1969), habiéndose empleado para la determinación del herbicida clortolurón por diferentes autores (Grob 1981; Deleu 1977; Buser y Grolimund, 1974; Tadeo et al. 1989 ; Brodesser et al. 1990).

El herbicida clortolurón, empleado en nuestro trabajo, presenta dos vías principales de metabolización en cereales y su flora asociada (Cole y Owen, 1987; Gross et al. 1979). Una de ellas es la N-desmetilación, lo que conduce después de dos pasos sucesivos a un metabolito N-didesmetilado no fitotóxico. Esta vía de

destoxificación es seguida prioritariamente por las malas hierbas (Ryan y Owen, 1982).

La segunda ruta posible para el clortolurón es la hidroxilación del metilo unido al anillo, lo que conduce a metabolitos no fitotóxicos susceptibles de conjugarse con azúcares. Esta es la ruta de destoxificación seguida por los cereales, pudiendo atribuir en parte la selectividad del herbicida a estas diferencias en el metabolismo. Sin embargo existen diferencias de selectividad por parte de cultivares de trigo que presentan el mismo patrón metabólico (Cabanne et al. 1985).

En general, la determinación de los niveles de estos herbicidas en material vegetal están orientados por un lado a la determinación de residuos en especies de interés alimentario y por otro a profundizar en el conocimiento de las causas de la selectividad.

El propósito de este estudio ha sido evaluar los niveles del herbicida clortolurón y su variación en el tiempo, en los cultivares y malas hierbas objeto de nuestro estudio, con el fin de conocer si la tasa de destoxificación puede explicar las diferencias de respuesta detectadas.

6.2.MATERIAL Y METODOS

Semillas germinadas de los cultivares 'Castan', 'Anza' y 'Recital' (trigos blandos), 'Roqueño'(trigo duro), 'Barbarrosa'(cebada) y 'Tajuña' y 'Badiel'(triticales), así como de las malas hierbas gramíneas *A.sterilis ssp. ludoviciana* y *B.diandrus*, crecen en solución nutritiva, durante siete días (como se detalla en 2.8.), realizando tratamientos puntuales de 24h con clortolurón a dosis de 2 y 4 ppm con 10 repeticiones por tratamiento.

Veinticuatro horas después de realizado el tratamiento, T=0, la mitad de las plantas se cortan pesando la parte aérea y congelándolas posteriormente a -18°C. Igualmente se procedió 6 días después de retirar el herbicida.

La cámara de crecimiento de plantas utilizada posee alternancia de 16h luz y 8h oscuridad, con intensidad luminosa de $100\mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. La temperatura oscila entre $24\pm 1^\circ\text{C}$ en luz y $16\pm 1^\circ\text{C}$ en oscuridad.

El procedimiento analítico seguido para la extracción se describe en 2.8., determinando los niveles de clortolurón mediante cromatografía de gases, cuantificando el correspondiente isocianato en el que se transforma el clortolurón (Tadeo et al.1989).

6.3. RESULTADOS Y DISCUSION

En la determinación cromatográfica del clortolurón se obtuvo una respuesta lineal entre 0.3ng a 6ng, como mínimo, siendo el límite de detección del método de 0.01µg de clortolurón/g_{pf}.

El cuadro 20 muestra los niveles de clortolurón en parte aérea, cuando el tratamiento se realizó a 2ppm, en cultivares de trigo duro, trigo blando, cebadas y triticales, determinados a T=0 y T=6 desde su retirada de la solución herbicida. Igualmente se muestra el contenido final de herbicida (µg/pl), expresado en %.

En estos resultados se observa, que para la dosis más baja de clortolurón, 2ppm, en todos los casos se produce una destoxificación del herbicida, ya que los niveles medidos a T=0 son siempre superiores a los detectados a T=6. No obstante, la velocidad con la que se produce la degradación no es igual en todos los cultivares ensayados, siendo la cantidad de herbicida inicial no degradada inferior al 10% en todos los casos, con la excepción de los cultivares 'Recital' (trigo blando) y 'Badiel'(triticale), que presentan valores del 40% y 23% respectivamente.

Los niveles de clortolurón cuando la dosis aplicada fué de 2ppm, a las 24h de realizar el tratamiento (T=0) oscilaron entre 0.86 y 3.8 µg/g_{pf}, con unos contenidos de herbicida por planta entre 0.17 y 1 µg/planta. Los cultivares de trigo blando ensayados; 'Castan', 'Anza' y 'Recital' mostraron valores iniciales de herbicida similares, en torno a 1µg/g_{pf}. Sin embargo, en los triticales, el contenido de clortolurón por planta es significativamente diferente en el cultivar sensible 'Badiel' que en el tolerante 'Tajuña', siendo este más del doble en el primero que en el segundo, con unos niveles de

herbicida también significativamente diferentes entre ambos. El trigo duro 'Roqueño' y la cebada 'Barbarrosa' presentan niveles en torno a $2\mu\text{g/g}_{\text{pf}}$.

Seis días después de retirar el tratamiento ($T=6$), los niveles de herbicida por planta son significativamente inferiores en los cultivares con comportamiento tolerante como 'Castan' con $0.01\mu\text{g/planta}$ o 'Tajuña', 'Anza' y 'Roqueño' con $0.02\mu\text{g/planta}$ frente a 'Recital' $0.11\mu\text{g/planta}$ o 'Badiel' con $0.25\mu\text{g/planta}$. En el cultivar de cebada 'Barbarrosa' los niveles ascienden a $0.07\mu\text{g/planta}$, lo que esta de acuerdo con su sensibilidad al herbicida, que es mayor que en los trigos tolerantes.

Las diferencias obtenidas en los niveles del herbicida, expresados como $\mu\text{g/g}$ de peso fresco, son igualmente significativas, oscilando los niveles a los seis días en torno a $0.05\mu\text{g/g}_{\text{pf}}$ para los cultivares tolerantes respecto a los sensibles 'Barbarrosa', 'Recital' y 'Badiel', que muestran valores de 0.16, 0.4 y $0.6\mu\text{g/g}_{\text{pf}}$ respectivamente.

El cuadro 21 muestra los niveles de clortolurón en parte aérea, cuando el tratamiento se realizó a 4ppm, en cultivares de trigo duro, trigo blando, cebadas y triticales, determinados a $T=0$ y $T=6$ desde su retirada de la solución herbicida. Igualmente se muestra el contenido final de herbicida ($\mu\text{g/pl}$), expresado en %.

En estos resultados, de manera similar a lo ocurrido para la dosis de 2ppm de clortolurón, se observa una destoxificación del herbicida en todos los cultivares estudiados, con una velocidad de degradación diferente para los cultivares sensibles 'Badiel' y 'Recital' que presentan valores del 19% y 26% de la cantidad herbicida

inicial.

A estas dosis, en el caso de los cultivares de trigo blando estudiados, podemos observar que tanto el contenido de herbicida por planta ($\mu\text{g/pl}$), como por gramo de peso fresco ($\mu\text{g/g}_{\text{pf}}$), es superior en el cultivar 'Anza' que en los otros dos. Asimismo existen diferencias significativas, al igual que a la dosis de 2ppm, en los niveles de herbicida tanto por planta como por gramo de peso fresco, entre los cultivares de triticale 'Badiel' (sensible) y 'Tajuña' (tolerante).

Seis días después de finalizar el tratamiento a 4ppm, los niveles de herbicida por planta son inferiores en los cultivares tolerantes, presentando 'Barbarrosa', 'Recital' y 'Badiel' los valores más elevados con contenidos de 0.18, 0.21 y 0.31 $\mu\text{g/planta}$ respectivamente.

Considerando los niveles por gramo de peso fresco, son también los cultivares sensibles 'Recital' y 'Badiel' los que presentan mayores contenidos, con valores de 1.06 y 0.9 $\mu\text{g/g}_{\text{pf}}$ respectivamente. El cultivar de cebada 'Barbarrosa', con niveles de 0.54 $\mu\text{g/g}_{\text{pf}}$ presenta un comportamiento intermedio entre tolerantes y sensibles, al igual que lo sucedía en los tratamientos con 2ppm.

Seis días después de retirar el tratamiento, los niveles de herbicida en la parte aérea son diferentes entre cultivares tolerantes y sensibles. Así, los niveles en los cultivares más tolerantes son del orden de una décima parte de los obtenidos a T=0, mientras que en los cultivares sensibles, 'Recital' y 'Badiel', los contenidos de herbicida son de 4 a 6 veces más altos que en los tolerantes.

En el caso del cultivar de trigo blando 'Anza', que a la dosis elevada presenta una sensibilidad mayor al clortolurón que el tolerante de la misma especie 'Castan', parece explicarse por una mayor absorción de herbicida respecto a 'Castan', puesto que su velocidad de degradación es semejante.

Las diferencias en los contenidos iniciales de herbicida en los cultivares, sensible y tolerante, de triticale, tanto por unidad de peso fresco como en el contenido por planta, hace pensar que las diferencias de absorción puedan estar implicadas en la selectividad del clortolurón. Diferencias en la absorción y translocación de otras fenilureas, como linurón en tomate (Hogue y Warren, 1968) o cloroxurón (Geissbühler et al. 1963), se han descrito en la literatura, aunque estas diferencias no han sido detectadas con el herbicida clortolurón para cultivares de trigo (Ryan y Owen, 1982; Muller y Frahn, 1980; Cabanne et al. 1985).

El cuadro 22 muestra los niveles obtenidos para las dos malas hierbas gramíneas asociadas al cultivo de cereales, *A. sterilis ssp. ludoviciana* y *B. diandrus*. La principal ruta metabólica utilizada por la avena, como mecanismo de destoxificación del herbicida, es una N-desmetilación que conduce en un primer paso a un metabolito N-monodesmetilado fitotóxico y posteriormente a un metabolito N-didesmetilado no fitotóxico (Ryan y Owen, 1982). En el caso del bromo están descritas las dos rutas metabólicas conocidas para clortolurón, tanto la hidroxilación del metilo unido al anillo como la N-didesmetilación (Gonneau et al. 1988)

Los niveles de herbicida a T=0, cuando se trató con 2ppm de clortolurón, son significativamente diferentes entre *A. sterilis ssp. ludoviciana*, 0.39 µg/planta, y los

mostrados por *B.diandrus*, 0.13 µg/planta; lo que supone del orden de 3 veces más.

Este hecho sugiere que *A.sterilis ssp. ludoviciana* presenta una mayor absorción del herbicida que *B.diandrus*, similar a lo descrito para la especie *A.fatua* por Ryan y Owen, (1982).

Los niveles de herbicida presentes seis días después del tratamiento no son significativamente distintos para el bromo que para la avena, siendo en ambos casos el porcentaje de reducción de los contenidos de herbicida similares (Cuadro 22).

Los resultados expuestos muestran, que en todos los cultivares de cereales y malas hierbas estudiados, el herbicida clortolurón se ha absorbido por la raíz alcanzando la parte aérea de la planta, como lo demuestran los contenidos iniciales de herbicida, detectados al finalizar el tratamiento.

Igualmente, los niveles de clortolurón detectados a T=6, sugieren que las diferencias de selectividad en los cultivares estudiados puedan explicarse por las diferencias cuantitativas detectadas al finalizar el ensayo; siendo los niveles de herbicida menores en los cultivares de comportamiento tolerante.

No obstante, en el caso de los triticales estudiados, la mayor absorción de clortolurón por el cultivar sensible 'Badiel' que por el tolerante 'Tajuña', absorción que es más de dos veces superior, nos sugiere la implicación de este factor en la sensibilidad del herbicida. Asimismo, a la dosis alta de clortolurón (4ppm), el cultivar de trigo blando 'Anza' absorbe más herbicida que el tolerante 'Castan', lo que puede

explicar su mayor sensibilidad al herbicida a dicha dosis frente a 'Castan'.

Por consiguiente, los resultados obtenidos ponen de manifiesto que la absorción, translocación y degradación constituyen un conjunto de factores implicados en la selectividad del clortolurón en los cereales.

La mayor susceptibilidad al herbicida presentada por *A. sterilis ssp. ludoviciana* frente a *B. diandrus*, se debe a la mayor absorción de producto que llega a ser tres veces superior para la avena. Por otro lado hay que considerar que la capacidad del bromo para conjugar el metabolito N-monodesmetilado fitotóxico, obtenido como primer paso de la N-didesmetilación, citada por Gonneau et al. (1988), puede igualmente contribuir a la mayor tolerancia mostrada.

CUADRO 20

Niveles de clortolurón (2 ppm), medidos en $\mu\text{g/planta}$ y $\mu\text{g/g}_{\text{pf}}$ en cultivares de trigo, cebada y triticale.

	T=0 (2ppm)		T=6 (2ppm)		Contenido final de herbicida ($\mu\text{g/pl}$), en %.
	$\mu\text{g/pl.}$	$\mu\text{g/g}_{\text{pf}}$	$\mu\text{g/pl.}$	$\mu\text{g/g}_{\text{pf}}$	
<i>Triticale</i> BADIEL	1.06 a	3.88 a	0.25 a	0.64 a	23%
<i>H.vulgare</i> BARBARROSA	0.54 b	2.19 b	0.07 c	0.16 c	13%
<i>Triticale</i> TAJUÑA	0.45 bc	1.79 bc	0.03 d	0.05 d	5%
<i>T.turgidum var.durum</i> ROQUEÑO	0.39 bcd	1.71 bc	0.03 d	0.05 d	7%
<i>T.aestivum</i> RECITAL	0.27 cd	1.28 cd	0.11 b	0.40 b	40%
<i>T.aestivum</i> ANZA	0.27 cd	1.32 cd	0.02 d	0.05 d	7%
<i>T.aestivum</i> CASTAN	0.18 d	0.86 d	0.02 d	0.05 d	11%

Los valores con la misma letra no difieren significativamente al 1%, en cada columna.

CUADRO 21

Niveles de clortolurón (4ppm), medidos en $\mu\text{g/planta}$ y $\mu\text{g/g}_{\text{pr}}$, en cultivares de trigo, cebada y triticale.

	T=0 (4ppm)		T=6 (4ppm)		Contenido final de herbicida($\mu\text{g/pl}$), en %.
	$\mu\text{g/pl.}$	$\mu\text{g/g}_{\text{pr}}$	$\mu\text{g/pl}$	$\mu\text{g/g}_{\text{pr}}$	
<i>T.turgidum</i> var. <i>durum</i> ROQUEÑO	1.68 a	5.00 b	0.12 bcd	0.19 d	7%
<i>Triticale</i> BADIEL	1.63 a	6.50 a	0.31 a	0.96 b	19%
<i>T.aestivum</i> ANZA	1.55 a	6.38 a	0.06 d	0.17 d	3.8%
<i>Triticale</i> TAJUÑA	1.23 b	4.72 bc	0.10 cd	0.25 d	8%
<i>H.vulgare</i> BARBARROSA	1.21 b	4.41 bc	0.18 bc	0.54 c	5%
<i>T.aestivum</i> CASTAN	1.02 bc	3.82 c	0.04 d	0.08 d	3%
<i>T.aestivum</i> RECITAL	0.80 c	4.85 bc	0.21 b	1.06 a	26%

Los valores con la misma letra no difieren significativamente al 1%, en cada columna.

CUADRO 22

Niveles de clortoluron (2ppm), medidos en $\mu\text{g/planta}$ y $\mu\text{g/g}_{\text{pf}}$, en las malas hierbas *B.diandrus* y *A.sterilis ssp. ludoviciana*.

	T=0 (2ppm)		T=6 (2ppm)		Contenido final de herbicida ($\mu\text{g/pl}$), en %.
	$\mu\text{g/pl.}$	$\mu\text{g/g}_{\text{pf}}$	$\mu\text{g/pl.}$	$\mu\text{g/g}_{\text{pf}}$	
<i>A.sterilis ssp ludoviciana</i>	0.39 a	3.59 a	0.06 c	0.33 c	15 %
<i>B.diandrus</i>	0.13 b	1.39 b	0.02 c	0.10 c	15%

Las valores con la misma letra, en $\mu\text{g/pl.}$ y $\mu\text{g/g}_{\text{pf}}$, no difieren significativamente al 1%.

CAPITULO 7.

ESTUDIO DE LA HERENCIA DE LA TOLERANCIA A CLORTOLURON .

7.1. INTRODUCCION

La respuesta diferencial que presentan los cultivares de una determinada especie frente a la aplicación de herbicidas, es un hecho constatado por diversos autores.

En el presente trabajo (Capítulo 3) se ponen de manifiesto diferencias en la respuesta de algunos de los cultivares de trigo, cebada y triticales más sembrados en nuestro país, frente a la aplicación del herbicida clortolurón.

Este hecho plantea serios problemas a la hora de aplicar estos productos para controlar las poblaciones de malas hierbas que compiten con el cultivo, pudiendo producir daños en éste a dosis necesarias para el control de las malas hierbas. Pese a ello, a la hora de obtener un nuevo cultivar son muchos los factores que se tienen en cuenta, tales como el aumento de producción de la cosecha, la mejor adaptación a condiciones climáticas y edáficas o la mayor calidad y mejor resistencia a enfermedades, sin que la respuesta a herbicidas sea atendida por el mejorador, salvo en ensayos realizados a posteriori para establecer recomendaciones generales en su respuesta a herbicidas.

La creciente necesidad de selectividad en los cultivares frente a los herbicidas utilizados en ellos, hace necesario abordar este problema. El empleo de antídotos y la modificación de los cultivares hacia la tolerancia a herbicidas, constituyen un camino eficaz para solventar el problema (García Baudín 1990), ya que una tercera posibilidad que implicara la síntesis de nuevos productos, resultaría un proceso excesivamente largo

y costoso.

El desarrollo de cultivares tolerantes a herbicidas, encaminado a obtener genotipos vegetales que satisfagan las necesidades del hombre, puede conseguirse según Marshall (1987) por tres vías fundamentales , entre las que se pueden emplear modernas técnicas de manipulación, como *el cultivo de tejidos*, que permite la selección de variantes somaclonales, manipulando grandes poblaciones en espacio reducido y en corto tiempo, con incremento de la presión de selección así como técnicas de mutagénesis química o física con el mismo propósito y las *técnicas de ingeniería genética* que permiten la transferencia de genes entre especies alejadas filogenéticamente.

Por otro lado, las *clásicas técnicas de mejora*, estan encaminadas a la alteración de genotipos que aumen las características necesarias para que expresen su productividad potencial al máximo, confiriéndole, entre otras características, resistencia a los agentes que tienden a disminuir la producción.

Según Sánchez-Monge (1974), la mejora de las resistencias debe ser abordada con el siguiente planteamiento: 1º. Búsqueda de fuentes de resistencia de forma natural ó selección de genotipos tolerantes en ensayos de campo. 2º Transferencia de los genes responsables a las variedades a mejorar. 3º Estimación del grado de resistencia de cada una de las plantas de una población segregante. 4º Selección de las plantas con mayor grado de resistencia.

El hecho de que el caracter tolerancia sea controlado por uno o por un pequeño

número de genes, facilita la transferencia y no sólo entre cultivares de la misma especie, sino también entre especies alejadas, lo que puede resultar de un enorme interés práctico.

La diferente respuesta de los cultivares de trigo a diversos productos químicos, aplicados de forma exógena, ha sido puesta de manifiesto, tanto frente a productos químicos inorgánicos, como concentración de metales y sales en suelos (Christiansen y Lewis, 1982; Gorham et al. 1987; Prestes et al. 1975), como frente a productos orgánicos entre los que se encuentran herbicidas (Gale y Marshall, 1973; Quarrie 1982).

La primera herencia estudiada de tolerancia a un pesticida fué al DDT en cebada, que viene regido por un gen mayor de susceptibilidad dominante (Wiebe y Hayes, 1960).

La herencia de la tolerancia-resistencia a los herbicidas todavía es poco conocida, lo que sin duda se debe a la complejidad del fenómeno. Esta herencia puede ser tanto nuclear como citoplásmica y estar regida por un solo gen (monogénica), o por una suma de ellos (poligénica).

Numerosos ejemplos de herencia citoplásmica se citan frente al grupo de las triazinas en diferentes especies como *Brassica campestris* L. (Souza Machado et al. 1978), *Senecio vulgaris* L. (Scott y Putwain, 1981), *Setaria viridis* (L.)P.B. (Darmency y Pernes, 1985), *Brassica napus* L. (Maltais y Bouchard, 1978), *Chenopodium album* L. (Souza Machado y Bandeen, 1977), *Amaranthus retroflexus* L. (Solymosi 1981), o *Solanum nigrum* L. (Gasquez y Compoint, 1981) entre otras.

En cuanto a la herencia nuclear regida por mas de un gen se puede citar la presentada por *Avena fatua* L. frente a dialato (Jacobsohn y Anderson, 1968), *Avena sativa* L. frente a diclofopmetil (Geadelmann y Anderson, 1977), *Convolvulus arvensis* L. frente a glifosato (Duncan y Weller, 1987) o *Lolium perenne* L. frente a paraquat (Faulkner 1974).

Ejemplos de herencia nuclear atribuible a un solo gen son los presentados por *Zea mays* L. frente a triazinas (Grogan et al. 1963; Scott y Grogan, 1969), *Hordeum glaucum* Stad. frente a paraquat (Islam y Powles, 1988), *Sorghum halepense* (L.) Pers. frente a 2,4D (Wiese y Quinby, 1969), *Solanum tuberosum* L. frente a metribuzina (Edwards et al. 1976) o *Triticum aestivum* L. frente a difenzoquat (Snape et al.1987)

Se han citado diferentes tipos de resistencia frente a un mismo herbicida, así se ha detectado la resistencia a metribuzina controlada por un solo gen en *Glycine max* (L.) Merr. (Edwards et al.1976) y *Licopersicum esculentum* Miller (Souza Machado et al. 1982), y por varios genes en *Ipomaea batatas* (L.) Lam. (Harrison et al. 1987).

Los estudios en relación a la herencia de la respuesta a herbicidas del grupo de los "derivados de la urea" son muy escasos. Entre ellos se conoce la herencia de tipo nuclear atribuible a un solo gen para *Triticum monococum* L. frente a isoproturón descrita por Gill et al. (1986), así como la posible herencia monogénica frente a clortolurón e isoproturón en cultivares de trigo mencionada por Tottman et al. (1975), si bien este hecho no fue confirmado mediante cruzamientos. Snape y Parker, (1988)

describen una herencia monogénica frente a clortolurón, en trabajos realizados en campo, utilizando líneas de sustitución del cultivar de trigo 'Capelle-Deprez' (resistente) en el cultivar sensible 'Chinese Spring'.

El conocimiento del determinismo genético de la resistencia es un paso previo fundamental a la hora de transferir un carácter. Ello motivó que nos interesáramos por el estudio de la herencia de la tolerancia al herbicida clortolurón, en dos cultivares de trigo blando seleccionados en nuestro trabajo, 'Castan' y 'Recital', con respuestas tolerante y sensible respectivamente a este herbicida (Sixto y García-Baudín, 1988).

7.2. MATERIAL Y METODOS

El material vegetal empleado son los cultivares de *Triticum aestivum*, 'Castan' y 'Recital', tolerante y sensible respectivamente frente al herbicida clortolurón. Se procede como se detalla en 2.9., obteniéndose hasta la 3ª generación de autofecundación.

Experimento 1

Se analizan 9 granos F_1 descendientes del cruzamiento 'Castan' x 'Recital' y 9 granos F_1 para el sentido del cruzamiento 'Recital' x 'Castan'.

Igualmente se analizan 10 familias F_2 procedentes de 'Castan' x 'Recital' (F.32, F.33, F.34, F.35, F.37, F.39, F.40, F.41, F.43 y F.44) y 10 familias F_2 procedentes de 'Recital' x 'Castan' (F.1, F.2, F.3, F.4, F.5, F.6, F.7, F.9, F.10 y F.11) con 18 individuos por familia en dos repeticiones de 9, así como 18 individuos 'Castan' y 18 'Recital' utilizados como testigos.

Entendemos por familias F_n al conjunto de granos o individuos F_{n+1} procedentes de autofecundar una planta F_n .

El crecimiento de las plantas se realiza en solución nutritiva como se describe en 2.6.2, realizando el tratamiento con clortolurón a 4ppm durante 24 h. Se utiliza la relación en peso fresco: (Peso planta a tiempo 6 - Peso planta a tiempo 0) / Peso planta a tiempo 0. Este índice palía las diferencias de crecimiento entre las plantas en la

semana anterior al tratamiento herbicida.

Las plantas se mantuvieron en cámaras con condiciones controladas de temperatura, de $24 \pm 1^\circ\text{C}$ en luz y $16 \pm 1^\circ\text{C}$ en oscuridad, siendo la intensidad luminosa de $100\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ y alternancia de 16 h luz y 8 h oscuridad.

Experimento 2

En un segundo experimento, en el que se aborda el estudio de la 3ª generación, se analiza la descendencia de :

'Recital' x 'Castan'

- A) 4 familias F_3 procedentes de cada una de las familias F_2 : F.4, F.5, F.6 y F.7, con 9 plantas por familia.
- B) 10 familias F_3 procedentes de cada una de las familias F_2 : F.1 y F.11 , y 9 familias F_3 procedentes de la familia F_2 : F.3; con 5 plantas por familia.

'Castan' x 'Recital'

- A) 4 familias F_3 procedentes de cada una de las familias F_2 : F.32 y F.35 con 9 plantas por familia.
- B) 10 familias F_3 procedentes de cada una de las familias F_2 : F.33 y F.40 con 5 plantas por familia
- C) 5 familias F_3 procedentes de la familia F_2 : F.43, con 9 individuos por familia.
- D) 9 familias F_3 procedentes de la familia F_2 : F.41, con 9 plantas por familia.

El crecimiento de las plantas y el tratamiento herbicida es idéntico al del experimento anterior.

7.3.RESULTADOS

EXPERIMENTO 1

El Cuadro 23 muestra las medias y desviaciones típicas de los incrementos de peso, obtenidos mediante la relación $(P_6 - P_0/P_0)$, de dos bloques de 9 plantas cada uno, para 10 familias F_2 procedentes del cruzamiento 'Recital' x 'Castan'.

En el supuesto de un control monogénico del carácter tolerancia-sensibilidad al clortolurón, una planta homocigota tendrá una descendencia homogénea y toda varianza será ambiental. La descendencia de una planta heterocigota para este carácter tendrá una varianza mucho mayor, al sumarse una componente genética a la ambiental.

En las familias F.4 y F.6 los incrementos de peso de todos sus individuos están en el rango de 'Recital', presentando medias bajas y varianzas pequeñas.

En las familias F.5 y F.7 los incrementos de peso de todos los individuos analizados se encuentran en el rango de 'Castan', presentando medias altas y varianzas pequeñas.

En el resto de familias analizadas, F.1, F.2, F.3, F.9, F.10 y F.11, los incrementos de peso de los individuos están entre 'Castan' y 'Recital' presentando varianzas grandes. Los individuos pertenecientes a estas familias son tolerantes o sensibles en proporción: 83 tolerantes y 25 sensibles (Cuadro 24).

Para la comparación de las medias se calculan los intervalos de confianza de los errores típicos dentro de cada familia utilizando una t-de Student al 95% de probabilidad, dando un valor de $\pm t_{0.5} s/\sqrt{18}=\pm 2,11$. La representación gráfica de las medias así como de sus intervalos de confianza queda reflejado en la Figura 22.

Como se observa en la Figura 22, encontramos dos familias con media y varianza similar a 'Recital', la F.4 y la F.6, dos con media y varianza similar a 'Castan', la F.5 y la F.7, que no se encuentran segregando puesto que su varianza es pequeña, y seis familias restantes que están segregando ya que presentan varianzas grandes.

En el análisis de nueve individuos F_1 para este sentido del cruzamiento se obtuvo un incremento medio de peso de 0.60 g (cuando la media de 'Castan' para el experimento fue de 0.64 g), una desviación típica de 0.02 (cuando la desviación típica de 'Castan' fue 0.05), siendo los valores extremos 0.69 y 0.52 (ambos dentro del rango de 'Castan').

El Cuadro 25 presenta las medias y desviaciones típicas de los incrementos de peso fresco obtenidos para dos bloques de 9 plantas de 10 familias F_2 procedentes del cruzamiento 'Castan' x 'Recital'. La representación gráfica de la Figura 22 muestra la media y los intervalos de confianza de cada una de las familias siguiendo el criterio descrito anteriormente.

En este sentido del cruzamiento las familias F.32 y F.35 muestran todos sus individuos en el rango de 'Recital'. Estas familias tienen medias bajas y varianzas pequeñas.

La familia F.41 presenta una varianza pequeña, similar a la de las familias F.5 o F.7, pero muestra una media inferior a 'Castan', ya que 2 de los 18 individuos analizados se muestran fuera del rango de 'Castan' (planta 1, 0.5151 g y planta 10, 0.4629 g). La familia 43 con media alta similar a 'Castan' muestra sin embargo una varianza grande, así como 1 de los 18 individuos analizados en el rango de 'Recital' (planta 1, 0.0920 g).

El resto de familias F_2 analizadas, F.33, F.34, F.37, F.39, F.40 y F.44, presentan incrementos de peso de sus individuos que van desde 'Castan' a 'Recital' y muestran varianzas altas. El número de individuos tolerantes es de 82 y de 26 de sensibles (Cuadro 26).

En el análisis de 9 individuos F_1 , cuando el sentido del cruzamiento fue 'Castan' x 'Recital', se obtuvo un incremento medio de peso de 0.68 g (cuando la media de 'Castan' para el experimento fue de 0.64) y una desviación típica de 0.03 (siendo la desviación típica de 'Castan' de 0.05), siendo los valores extremos 0.88 y 0.54 (ambos dentro del rango de 'Castan').

Como se observa en la Figura 22, encontramos dos familias con media y varianza similar a 'Recital', la F.32 y la F.35, que no se encuentran segregando y su

varianza es pequeña. Las familias F.33, F.34, F.37, F.39, F.40 y F.44 están segregando, presentando una varianza grande.

El comportamiento de la familia F.41, con varianza pequeña y media inferior a 'Castan', y de la familia F.43, con media similar a 'Castan' pero con varianza grande, hacen necesario recurrir al estudio más amplio de la siguiente generación con el fin de asignar un genotipo a estas familias.

EXPERIMENTO 2

En un segundo experimento se aborda el estudio de la generación F_3 , para confirmar la asignación de un genotipo a la F_2 .

Cuando el sentido del cruzamiento es 'Recital' x 'Castan', se analiza cuatro familias F_3 de cada una de las familias F_2 : F.4, F.5, F.6 y F.7, con 9 individuos por familia. La distribución de individuos por frecuencias en dos clases; tolerantes y sensibles se muestran en el Cuadro 27. Todos los descendientes de las familias F_2 : F.4 y F.6, se muestran en el rango de 'Recital'; así como todos los descendientes de las familias F_2 : F.5 y F.7, se muestran en el rango de 'Castan'.

Se analiza la descendencia de 10 familias F_3 procedentes cada una de las familias F_2 : F.1 y F.11, de 9 familias F_3 procedentes de la familia F_2 : F.3, con 5 individuos por familia. Cuando el sentido del cruzamiento es 'Castan' x 'Recital' se analiza de la descendencia de 10 familias F_3 procedentes de cada una de las familias

F_2 : F.33 y F.40, de 9 familias F_3 procedentes de la familia F_2 : F.41 y de 5 familias F_3 procedentes de la familia F_2 : F.43. La distribución de las familias analizadas por frecuencias en tolerantes, segregando y sensibles, se muestran en el Cuadro 28, siendo el número de familias tolerantes de 18, frente a 33 segregando y 13 sensibles.

Cuando el sentido del cruzamiento es 'Castan' x 'Recital', se analiza la descendencia de 4 familias F_3 procedentes de cada una de las familias F_2 : F.32 y F.35, con 9 individuos por familia. Todos los individuos analizados son sensibles (Cuadro 29), mostrándose en el rango de 'Recital'.

La descendencia de 9 familias F_3 procedentes de la familia F_2 : F.41, con 9 individuos por familia, se muestra en el Cuadro 30 , apareciendo 70 plantas tolerantes y 11 sensibles. En el mismo Cuadro se muestra la descendencia de 5 familias F_3 procedentes de la familia F_2 : F.43, con 9 individuos por familia. En la descendencia de esta familia el número de plantas tolerantes es de 34 y 11 el de sensibles.

7.4. DISCUSION

El análisis de la F_1 en ambos sentidos del cruzamiento muestra dominancia para el caracter tolerancia, ya que todos los individuos analizados estan en el rango de 'Castan'. Este hecho indica que no existe intervención del citoplasma en el tipo de herencia.

De las diez familias F_2 analizadas, cuando el sentido del cruzamiento es 'Recital' x 'Castan' y que se representan en la Fig.22 por sus medias e intervalos de confianza, dos de ellas (F.4 y F.6) son homocigotas con media baja, dos son homocigotas con media alta (F.5 y F.7), segregando las seis restantes (F.1, F.2, F.3 , F.9, F.10 y F.11). El comportamiento de estas familias se ajusta a un modelo 1:2:1 característico de una herencia monogénica, siendo χ^2 no significativa con $p=0.5$.

Para el otro sentido del cruzamiento, 'Castan' x 'Recital', encontramos dos familias homocigotas con media baja (F.32 y F.35), seis familias que estan segregando (F.33, F.34, F.37, F.39, F.40 y F.44), y dos familias (F.41 y F.43), en las que la aparición de un solo individuo sensible en la F.43 y dos individuos intermedios en la F.41, nos lleva a pensar que se trate de familias heterocigotas, hecho que se confirmará mediante el estudio de la siguiente generación.

Cuando se analiza la generación F_3 se confirma que las familias F.4 y F.6 son homocigotas sensibles, ya que todos los individuos analizados estan en el rango 'Recital', así como tambien las familias F.32 y F.35 para el otro sentido del

cruzamiento.

Las familias F.5 y F.7, homocigotas tolerantes, ven confirmado este hecho ya que todos sus descendientes analizados son tolerantes.

Por otro lado las familias F.41 y F.43 , en las que era necesario recurrir al estudio de la F_3 para poder asignar un genotipo, muestran en su descendencia individuos tolerantes y sensibles, lo que confirma que se encuentran segregando.

El resto de familias analizadas, (F.33, F.40, F.1, F.3, y F.11), a las que se asignó un genotipo heterocigoto, siguen segregando en esta generación. El número de familias tolerantes , en todas las segregantes analizadas, es de 18 frente a 33 segregando y 13 que son sensibles, ajustándose estos valores a una segregación 1:2:1 en donde las proporciones esperadas serian 16:32:16, siendo χ^2 no significativa con $p=0.5$.

Todo ello parece confirmar la existencia de un gen mayor dominante responsable de la tolerancia a clortolurón.

Snape y Parker (1988) mencionan en su trabajo la presencia de un alelo tolerante en el cultivar francés 'Capelle-Deprez'. El hecho de que el cultivar 'Castan' sea de origen francés y de que 'Capelle-Deprez' haya sido un cultivar frecuentemente utilizado en los programas de mejora, nos hacen creer que pudiera tratarse del mismo alelo.

Estos autores, mediante la utilización de líneas de sustitución del cultivar

tolerante 'Capelle-Deprez' en el cultivar sensible 'Chinese Spring', concluyen que la tolerancia a clortolurón esta determinada por un gen mayor dominante situado en el cromosoma 6B, si bien los ensayos son realizados en campo siguiendo una interpretación visual, lo que puede dificultar la asignación de los genotipos en algunos casos.

Del análisis de los resultados obtenidos se desprende la posibilidad de que un segundo gen o genes pudieran estar implicados, en base a tres consideraciones:

A. De un lado las familias F_3 descendientes de la familia F_2 : F.41, que nos han llevado a asignar un genotipo heterocigoto a la familia F.41, se comportan 3 de ellas como 'Castan' y las 6 restantes se encuentran segregando, sin haber aparecido ninguna familia con comportamiento Recital.

B. Las familias F_3 descendientes de la familia F_2 : F.40, se comportan 2 de ellas como 'Recital' y 8 segregando, sin que aparezca ninguna 'Castan'.

C. En las familias homocigotas sensibles aparecen individuos con valores sensiblemente inferiores a 'Recital' (Ej. F.4 (4)- planta de 0.002g, siendo el 'Recital' más pequeño de 0.007).

Estos hechos parecen apuntar hacia la presencia de otro u otros factores genéticos implicados en mayor o menor medida en la tolerancia o sensibilidad de estos cultivares a clortolurón, habiéndose comenzado a abordar el estudio de esta posibilidad.

De nuestros resultados se desprenden tres hechos a tener en consideración:

- 1.** La existencia de un gen mayor para la tolerancia a clortolurón
- 2.** La no intervención del citoplasma en la herencia de la tolerancia a clortolurón.
- 3.** La posibilidad de que otro u otros factores genéticos esten implicados.

CUADRO 23

Medias y desviaciones típicas de los incrementos de peso obtenidos para 10 familias F₂ procedentes del cruzamiento 'Recital' x 'Castan'.

	Castan	Recital	F.1	F.2	F.3	F.4	F.5	F.6	F.7	F.9	F.10	F.11
\bar{x}_a	0,704	0,172	0,328	0,211	0,346	0,043	0,699	0,110	0,703	0,622	0,590	0,395
$\sigma_{\bar{x}a}$	0,017	0,017	0,064	0,051	0,040	0,008	0,031	0,030	0,029	0,085	0,061	0,085
\bar{x}_b	1,022	0,155	0,500	0,456	0,557	0,036	1,136	0,083	1,006	0,727	0,837	0,752
$\sigma_{\bar{x}b}$	0,050	0,030	0,110	0,108	0,117	0,010	0,068	0,017	0,063	0,123	0,102	0,102
$\bar{\bar{x}}$	0,863	0,160	0,414	0,333	0,451	0,039	0,918	0,097	0,854	0,675	0,713	0,574
$\sigma_{\bar{\bar{x}}}$	0,026	0,017	0,064	0,059	0,062	0,006	0,037	0,017	0,034	0,075	0,059	0,066

\bar{x}_a = Media del primer bloque de 9 individuos

$\sigma_{\bar{x}a}$ = Desviación típica

\bar{x}_b = Media del segundo bloque de 9 individuos

$\sigma_{\bar{x}b}$ = Desviación típica

$\bar{\bar{x}}$ = Media de 18 individuos, calculada $\bar{x}_a + \bar{x}_b / 2$

$\sigma_{\bar{\bar{x}}}$ = Desviación típica de 18 individuos, calculada $\sqrt{\sigma_{\bar{x}a}^2 + \sigma_{\bar{x}b}^2} / 2.n$, siendo n=2.

CUADRO 24

Distribución en tolerantes y sensibles, de 18 individuos analizados en familias F₂ segregantes, procedentes del cruzamiento 'Recital' x 'Castan'.

	Nº de INDIVIDUOS	
	TOLERANTES	SENSIBLES
F.1	13	5
F.2	11	7
F.3	14	4
F.9	16	2
F.10	16	2
F.11	13	5
TOTAL	83	25

CUADRO 25

Medias y desviaciones típicas de los incrementos de peso obtenidos para 10 familias F₂ procedentes del cruzamiento 'Castan' x 'Recital'.

	Castan	Recital	F.32	F.33	F.34	F.35	F.37	F.39	F.40	F.41	F.43	F.44
\bar{x}_a	0,832	0,172	0,285	0,614	0,575	0,110	0,378	0,422	0,349	0,622	0,688	0,629
$\sigma_{\bar{x}a}$	0,058	0,026	0,016	0,091	0,027	0,016	0,050	0,058	0,082	0,016	0,077	0,078
\bar{x}_b	0,743	0,283	0,195	0,580	0,438	0,153	0,330	0,444	0,420	0,520	0,704	0,505
$\sigma_{\bar{x}b}$	0,040	0,016	0,023	0,076	0,065	0,023	0,051	0,057	0,062	0,014	0,028	0,081
$\bar{\bar{x}}$	0,788	0,228	0,240	0,597	0,506	0,132	0,354	0,433	0,384	0,571	0,696	0,567
$\sigma_{\bar{\bar{x}}}$	0,035	0,015	0,014	0,059	0,035	0,014	0,036	0,041	0,052	0,011	0,041	0,056

\bar{x}_a = Media del primer bloque de 9 individuos

$\sigma_{\bar{x}a}$ = Desviación típica

\bar{x}_b = Media del segundo bloque de 9 individuos

$\sigma_{\bar{x}b}$ = Desviación típica

$\bar{\bar{x}}$ = Media de 18 individuos, calculada $\bar{x}_a + \bar{x}_b / 2$

$\sigma_{\bar{\bar{x}}}$ = Desviación típica de 18 individuos, calculada $\sqrt{\sigma_{\bar{x}a}^2 + \sigma_{\bar{x}b}^2} / 2.n$, siendo n=2.

CUADRO 26

Distribución en tolerantes y sensibles, de 18 individuos analizados en familias F₂ segregantes, procedentes del cruzamiento 'Castan' x 'Recital'.

Nº de INDIVIDUOS

	TOLERANTES	SENSIBLES
F.33	16	2
F.34	15	3
F.37	12	6
F.39	15	3
F.40	11	7
F.44	13	5
TOTAL	82	26

CUADRO 27

Distribución en tolerantes y sensibles de 9 individuos analizados en cuatro familias F_3 procedentes de una familia F_2

FAMILIAS F_2	FAMILIAS F_3	TOLERANTES	SENSIBLES
F.4	F.4 -1	0	9
	F.4 -2	0	9
	F.4 -3	0	9
	F.4 -4	0	9
F.6	F.6 -1	0	9
	F.6 -2	0	9
	F.6 -3	0	9
	F.6 -4	0	9
F.5	F.5 -1	9	0
	F.5 -2	9	0
	F.5 -3	9	0
	F.5 -4	9	0
F.7	F.7 -1	9	0
	F.7 -2	9	0
	F.7 -3	9	0
	F.7 -4	9	0

CUADRO 28

Distribución en tolerantes y sensibles de familias F_3 segregantes, procedentes de ambos sentidos del cruzamiento.

Familia F_2	Nº de Familias F_3 analizadas	Familias TOLERANTES	Familias SEGREGANDO	Familias SENSIBLES
F.1	10	5	4	1
F.3	9	1	3	5
F.11	10	3	6	1
F.33	10	1	5	4
F.40	10	0	9	1
F.43	5	3	1	1
F.41	10	5	5	0
TOTAL	64	18	32	16

CUADRO 29

Distribución en tolerantes y sensibles, de 9 individuos analizados en cuatro familias F_3 procedentes de una familia F_2 .

FAMILIAS F_2	FAMILIAS F_3	TOLERANTES	SENSIBLES
F.32	F.32-1	0	9
	F.32-2	0	9
	F.32-3	0	9
	F.32-4	0	9
F.35	F.35-1	0	9
	F.35-2	0	9
	F.35-3	0	9
	F.35-4	0	9

CUADRO 30

Distribución en tolerantes y sensibles, de 9 individuos analizados en familias F_3 , procedentes de una familia F_2 .

FAMILIAS F_2	FAMILIAS F_3	TOLERANTES	SENSIBLES
F.43	F.43-1	9	0
	F.43-2	0	9
	F.43-3	7	2
	F.43-4	9	0
	F.43-5	9	0
F.41	F.41-1	9	0
	F.41-2	8	1
	F.41-3	7	2
	F.41-5	9	0
	F.41-7	7	2
	F.41-8	7	2
	F.41-9	9	0
	F.41-10	7	2
	F.41-11	7	2

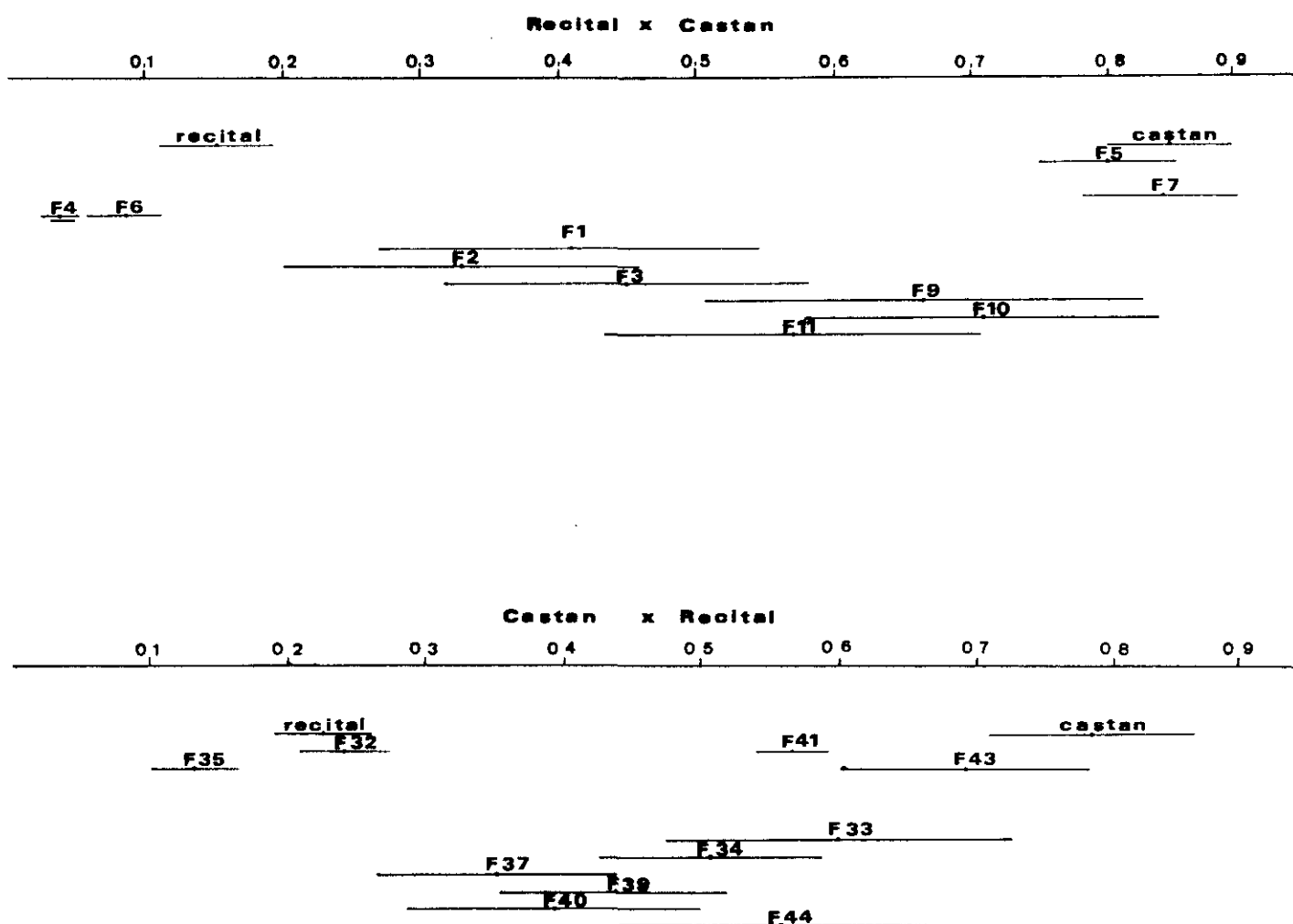


FIGURA 22

Representación gráfica de las medias e intervalos de confianza¹ de 10 familias F₂ procedentes del cruzamiento 'Castan' x 'Recital' y 10 familias F₂ procedentes de 'Recital' x 'Castan.'

¹Los intervalos de confianza se calcularon mediante una t-de Student al 0.5%

CONCLUSIONES

El trabajo desarrollado en la presente memoria, supone una aportación al conocimiento de la selectividad varietal en cereales de invierno frente a la acción del herbicida clortolurón, perteneciente al grupo químico de los derivados de la urea.

Las conclusiones de la investigación realizada se pueden agrupar:

1. El comportamiento de los cultivares utilizados procedentes del género *Triticum*, fue similar frente a los herbicidas clortolurón y metoxurón en contraposición a la respuesta mostrada frente a isoproturón.
2. Los cultivares procedentes de *Triticum aestivum* muestran diferencias de sensibilidad varietal frente a los herbicidas clortolurón y metoxurón, apareciendo cultivares de comportamiento tolerante (Ej.'Castan') y sensible ('Recital').
3. Los cultivares procedentes de *Triticum turgidum* var. *durum* mostraron mayor sensibilidad frente al herbicida isoproturón que respecto a clortolurón y metoxurón, sin que se hayan detectado diferencias de sensibilidad varietal en los cultivares que se incluyen en este trabajo.
4. Los cultivares procedentes de *Hordeum vulgare* mostraron comportamientos similares frente a los tres herbicidas estudiados, sin haber detectado diferencias de sensibilidad varietal.

5. El comportamiento de los triticales estudiados fué similar frente a clortolurón y metoxurón, en contraposición a la respuesta que presentan frente a isoproturón.
6. Los triticales estudiados muestran diferencias de sensibilidad varietal frente a clortolurón y metoxurón, apareciendo cultivares de comportamiento tolerante ('Tajuña') y sensible ('Badiel').
7. Se confirma la diferente sensibilidad entre las malas hierbas estudiadas, *B.diandrus* y *A.sterilis ssp. ludoviciana*, tolerante la primera y sensible la segunda observada en ensayos de campo.
8. Existen diferencias en la tasa de destoxificación del herbicida entre los cultivares estudiados, siendo ésta más elevada en los cultivares de comportamiento tolerante que en los sensibles.
9. En los cultivares de triticales existen diferencias en la absorción del herbicida entre el tolerante 'Tajuña' y el sensible 'Badiel', lo que sugiere la implicación de este factor en la sensibilidad al herbicida.
10. La mayor sensibilidad del cultivar 'Anza' a dosis altas de clortolurón (4ppm), respecto al cultivar tolerante 'Castan' se debe a diferencias de absorción del herbicida y no a la tasa de destoxificación que fue similar para ambos.
11. Los procesos de absorción y degradación, constituyen un conjunto de factores implicados en la selectividad del clortolurón en los cereales.

12. Las diferencias de sensibilidad al clortolurón en las dos malas hierbas estudiadas se deben a diferencias en la absorción del producto y no a la tasa de destoxificación que fue similar para ambas.
13. Existe un gen mayor dominante responsable de la tolerancia al herbicida clortolurón.
14. No existe intervención del citoplasma en la herencia de la tolerancia a clortolurón.
15. De los resultados obtenidos se desprende que otro u otros factores genéticos puedan estar implicados, siendo necesario proseguir la experimentación en este sentido.

BIBLIOGRAFIA

ABBOT,D.C; BLAKE,K.W; TARRANT,K.R; THOMSON,J. (1967)- "Thin-layer chromatographic separation, identification and estimation of residues of some carbamate and allied pesticides in soil and water" J.Chromatog., 30,136-142.

AHRENS,W.H; ARNTZEN,C.J; STOLLER,E.W. (1981)- "Chlorophyll fluorescence assay for the determination of triazine resistance" Weed Sci., 29,316-322.

ALBRECHT,H.R. (1947)- "Strain differences in tolerance to 2,4 D in creepingbent grasses" J. Amer.Soc.Agron., 39,163-165.

ALI,A; SOUZA-MACHADO,V. (1981)- "Rapid detection of triazine resistant weeds using chlorophyll fluorescence" Weed Res., 21,191-197

ALT,H; MORRIS,J; WESTHOFF,P; HERRMANN,R.C. (1984)- "Nucleotide sequence of the clustered genes for the 44KD chlorophyll a apoprotein and the "32 KD"-like protein of the photosystem II reaction center in the spinach plastid chromosome" Current Genetics, 8,597-606.

ANDERSEN,R.N. (1964)- " Differential response of corn inbreds to simazine and atrazine" Weeds, 12,60-61.

ANUARIO DE ESTADISTICA AGRARIA (1989)- Ministerio de Agricultura. Madrid

AUBREY,W.N (1976)- "Herbicide metabolism in plants" In: Herbicides:Physiology, Biochemistry,Ecology (Audus,L.J. ed) Academic Press,London, 397-422.

ARTACHO de LUNA,E; ARROYO,M; GARCIA-BAUDIN,J.M. (1978)- "Guía de Herbicidas" Ed. Agupacion Española de Plaguicidas. Madrid.286pp.

ASHTON,F.M; DE VILLIERS,O.T; GLENNAND,R.K; DUKE,W.B. (1977)- "Localitation of metabolic sites of action of herbicides" Pestic. Biochem. Physiol., 7,122-141.

ASTHON,F.M; CRAFT,A.S.(1981)- "Mode of action of herbicides" 2nd Edition, Wiley-Interscience, New York. 660pp.

BAILEY,L.H; BAILEY, E.Z. (1941)- "Some reflections upon weeds" In: Hortus the Second. Ed.Macmillan, New York. 778pp.

BANTING,J.D; RICHARDSON,W.G; HOLROYD,J. (1975)- " Factors affecting the perfomance of metoxuron and chlortoluron in crontolling blackgrass in winter wheat" Weed Res., 16, 239-248.

BINGHAM,J; LUPTON, F.G.H. (1987)- "Production of new varieties: an integrated research approach to plant breeding" In: Wheat Breeding.Its Scientific Basis (F.G.H. Lupton ed.) Chapman & Hall, Londres. 566pp.

BLAIR,A.M; DRENNAN,D.S.H; HOLLY,K (1976)-"The selectivity of methabenzthiazuron between barley, perennial ryegrass and *Poa trivialis*" Weed Res.,16,376-383.

- BLAIR,A.M. (1978)- "Some studies on the sites of uptake of chlortoluron, isoproturon and metoxuron by wheat, *Avena fatua* and *Alopecurus myosuroides*" Weed Res.,18, 381-387.
- BLEIDNER,W.E; BAKER,H.M; LEVITSKY,M; LOWEN.W.K. (1954)- "Determination of 3-(p-chlorophenyl)-1,1-dimethylurea in soils and plant tissue" J. Agr. Food. Chem., 2,476-479
- BOLETIN A.E.P.L.A (1991)-"Nuestro mercado" N° 2 p.6
- BOLLEY,A (1908)- "Weed control by means of chemical sprays" N.Dak.Agr.Expt. Sta.Bul., 80,541-574.
- BOUCHET,F; MAYNADIER,M.H.; PLOUY,B.; COCHET,J.C. (1977)- "Etude de la sensibilité de différentes espèces et variétés de céréales de printemps aux herbicides" 11^a Conférence COLUMA, 2,570-580.
- BRENCHLEY,W.E. (1920)- "Weeds of Farm Land" (Longmans,G. ed.) London 230pp.
- BREWER,P.E; ARNTZEN,C.J; SLIFE,F.W. (1979)- "Effects of Atrazine, Cyanazine, and Procyazine on the photochemical reactions of isolated chloroplasts" Weed Sci.,27,300-308.
- BRODESSER,J; PELDSZUS,S; SCHÖLER,H.F. (1990)- "Gas chromatographic

determination of urea herbicides" Von Vasser, 74,119-125.

BUCHA,H.C; TODD,C.W.(1951)- "3-(p-chlorophenyl)-1,1-dimethylurea, a new herbicide" Science, 114,493-494.

BUSER,H; GROLMUND,K. (1974)- "Direct determination of N'-Phenyl urea derivatives in herbicide technical products and formulations, using gas-liquid chromatography" Journal of the AOAC, 57,1294-1299.

BUSEY,P. (1976)- " Genetics and the weed problem" World Crops, 5,128-131.

CABANNE,F; GAILLARDON,P; SCALLA,R. (1985)- " Phytotoxicity and metabolism of chlortoluron in two wheat varieties" Pestic.Biochem.Physiol., 23:212-230

CADAHIA,E; DUCRUET,J.M; GAILLARDON,P. (1982)- "Whole leaf fluorescence as a cuantitative probe of detoxification of the herbicide chlortoluron in wheat" Chemosphere, 11,445-450.

CATIZONE,P; VIGGIANI,P. (1975)- "Sensibilità varietale di grani duri ai diserbanti" Informatore Fitopatologico, 2,35-39.

CAVERO,J (1991)-"Ensayos de selectividad de herbicidas en trigos duros y cebadas de dos carreras" Dirección General de Promocion Agraria. Informaciones técnicas 24,1-8

CHRISTIANSEN,M.N.; LEWIS,C.F. (1982)- "Breeding Plants for less favourable environments" Ed.Wiley & Sons, New York.355pp.

COCHET,J.C; HAUCOURT,J; PAVOT,J; BOISSON,P; JAN,P; MARABY,J. (1973)- "Etude de la sensibilité de différentes espèces et variétés de céréales d'hiver aux herbicides" 7^a Conference COLUMA, 2,555-564.

COCHET,J.C; PLOUY,B; MAYNADIER,M.H.(1979)- "Etude de la sensibilité de différentes espèces et variétés de céréales de printemps aux herbicides" 13^a Conference COLUMA, 2,305-313.

COLE,D.J; OWEN,W.J. (1987)- " Influence of composition of nutrient medium on the metabolism of chlortoluron in plant-cell suspension cultures" Pestic.Sci., 19, 67-78.

COVUREUR,F; BOUCHET,F; MAUMENE,J. (1973)- " A study of the possibilities for re-sowing a plot of cereal treated with herbicide in autumn after the crop had failed" 7^a Conference COLUMA, 1,53-60.

DANIELL,H; SAROJINI,G; KUMARACHINNAYAN,P; KULANDAIVELU,G. (1981)- " Action of propanil on *in vivo* chlorophyll a fluorescence in *Echinochloa crus-galli* and rice". Weed Res.,21,171-177.

DARMENCY,H; PERNES,J. (1985)- "Use of wild *Setaria viridis* (L.)Beauv. to improve triazine resistance in cultivated *S.italica* L. by hybridization" Weed

Res., 25,175-179.

DAVIS,E.A. (1966)- "The role of starvation in fenuron injury to shrub live oak"
Weeds, 14,10-17.

DEGEZ,L; DENCAUSSE,G; GOYENVALLE,C (1971)- "Control of wild oats in soft
winter wheat with N'-(3-chloro-4-methylphenyl)-NN-dimethylurea" 5^a
Conference COLUMA, 2,811-821.

DEISENHOFER,J; EPP,O; MIKI,K; HUBER,R; MICHEL,H.(1985)- "Structure of the
protein subunits in the photosynthetic reaction centre of *Rhodopseudomonas*
viridis at 3 Å resolution" Nature, 318,618-624.

DELEU,R. (1977)- " Identification de onze herbicides du groupe des urées substituées
par chromatographie sur couche CCM et en phase gazeuse"
J.Chromatogr.,134,483-488.

DETROUX,L; GOSTINCHAR,J. (1965)- "Los Herbicidas y su empleo" Ed.Oikos-Tau
S.A., Barcelona 476pp.

DICKS,I.W. (1978)- "Inhibition of the Hill reaction of isolated chloroplasts by
herbicidal phenilureas" Pestic.Sci., 9,59-62.

DUCRUET,J.M; GASQUEZ,J. (1978)- "Fluorescence as a means of detecting the
chloroplastic resistance of *Chenopodium album* L. and *Poa annua* L. to atrazine"

Chemosphere, 7,691-696.

DUCRUET,J.M; (1983)- "La fluorescence chlorophyllienne: un outil de diagnostic en agriculture" Phytoma, 5,7-10.

DUCRUET,J.M; GAILLARDON,P; VIENOT,J. (1984)- "Use of chlorophyll fluorescence induction kinetics to study translocation and detoxification of DCMU-type herbicides in plant leaves" Z. Naturforsch., 39c,354-358.

DUCRUET,J.M. (1991)- "Les Herbicides. Mode d'action et principes d'utilisation" (Scala ed) INRA, Paris.80-114.

DUNCAN,C.N; WELLER,S.C.(1987)- "Heritability of glyphosate susceptibility among biotypes of field bindweed" J. Hered., 78,257-260.

DUNCAN,D.B. (1955)- "Multiple Range and Multiple F-Test" Biometric,11, 1-42.

ESPARZA,M. (1983)- "Herbicidas en los cereales de Navarra" Primeras Jornadas Técnicas sobre cereales de invierno, II:185-197.

EDWARDS,D.J; BARRENTINE,W.L; KILEN,T.C. (1976)- "Inheritance of sensitivity to metribuzin in soybeans" Crop Science, 16,119-120.

FAO (1970)- Production year book Vol.24. Food and Agriculture Organization, Rome.

FAULKNER,J.S. (1974)- "Heritability of paraquat tolerance in *Lolium perenne*"

Euphytica, 23,281-288.

FEDTKE,D. (1979)- "Plant Physiological adaptations induced by low rates of photosynthesis" Z.Naturforsch., 34c,932-935.

FEDTKE,C. (1982)- "Biochemistry and Physiology of herbicide action" Springer-Verlag, New York 153pp.

FINNEY,D.J. (1971)- "Probit Analysis" 3rd Ed.Cambridge Univ. Press, Cambridge, 333pp.

FROST,C. (1972)- " The selectivity of post-emergence herbicides for *Avena fatua* control in spring wheat and barley" Proceeding 11th British Weed Control Conference 988-993.

FROUD,W; POLLARD,F.; RICHARDSON,W.G. (1980)- " Barren brome a threat to winter cereals?" Weed Res.Organization 8 Report, (1978-1979) 43-51.

GAILLARDON,P; GAUVRIT,C. (1981)- "Le Mode d'action des herbicides" Techniques Agricoles, 2395,1-26.

GALE,M.D; MARSHALL,G.A. (1973)- "Insensitivity to gibberellin in dwarf wheats" Annal.Bot., 37,729-735.

GARCIA-BAUDIN,J.M. (1975)- "Ensayo de herbicidas en el triticales 'Cachirulo'"

Anales INIA. Serie Protección Vegetal 5,317-328.

GARCIA-BAUDIN,J.M (1976)- "Sensibilidad del trigo 'Aragón 03' a diversos herbicidas" Bol.Serv. Plagas, 2:1,113-121.

GARCIA-BAUDIN,J.M; SALTO,T. (1979)- " Distribución e importancia del Género Avena, como planta adventicia en España" Anales INIA,Serie Protección Vegetal,10:147-156.

GARCIA-BAUDIN,J.M.(1982a)-"Importancia de las 'Avenas locas' en España" Bol.Serv. Plagas, 8:179-184.

GARCIA-BAUDIN,J.M.(1982b)- "Importancia de los "vallicos" en los cereales de invierno Españoles"- Bol. Serv. Plagas, 8:179-184.

GARCIA-BAUDIN,J.M; A.CONTRERAS; T.SALTO (1982)- " Especies adventicias del género *Phalaris* en los cereales de invierno en Andalucía occidental" Bol.Serv. Plagas, 8: 185-191.

GARCIA-BAUDIN,J.M; PEREZ MARSA,A (1982)- "Gramíneas adventicias y otras malas hierbas en los cereales de invierno de Cataluña" Fulls D'Informació Tècnica 15,1-12.

GARCIA-BAUDIN,J.M.(1983)- "Malas hierbas gramíneas en los cereales (Trigo y Cebada) de la region del Duero" I.R. nº 9 SEA. Consejo General de Castilla y León. 18pag.

- GARCIA- BAUDIN,J.M. (1984)- "Especies adventices graminées dans les céréales d'hiver (blé et orge) espagnoles" 3th Symposium on Weed Problems in the Mediterranean area" Oeiras,2,389-396.
- GARCIA-BAUDIN,J.M; CADAHIA,E (1987)- " Selectividad de los Herbicidas" En: Fisiología Vegetal'85 (J.L.Guardiola y C.Monerri,coords.) Universidad Politécnica de Valencia.pg 187-205.
- GARCIA-BAUDIN,J.M. (1990)- ""Selectividad y Resistencia a Herbicidas" Actas de la Reunión de la Soc.Esp. de Malherbología 36-38
- GASQUEZ,J; COMPOINT,J.P. (1981)- "Etude de la transmission de la resistance chloroplastique aux triazines chez *Solanum nigrum*" C.R.Acad.Sc.(Paris) Sec.D 292,847-852.
- GEADELMANN,J.L; ANDERSON,R.N. (1977)- "Inheritance of tolerance to HOE23408 in corn" Crop Science, 17,601-603.
- GEISSBÜLER,H; HASELBACH,C; AEBI,H. (1963)- "The fate of N'-(4-Chlorophenoxy)-Phenyl-NN-Dimethylurea (C-1983) in soils and plants" Weed Res.,3,140-153.
- GEISSBÜLER,H; MARTIN,H; VOSS,G. (1975)- "The Substituted Ureas." In: Herbicides: Chemistry,Degradation and Mode of action (Kearny,P.C. and D.D. Kaufman eds.) New York, Vol.I. 209-291.

- GILL,R.S; MULTAN,D.S; DHALIWAL,H.J. (1986)- "Transfer of isoproturon resistance from *Triticum monococum* to *Triticum durum*" Crop Improv. 13:2,200-203.
- GONNEAU,M; PASQUETTE,B; CABBANNE,F; SCALLA,R (1988)- " Metabolism of chlortoluron in tolerant species: possible role of cytochrome P-450 mono-oxygenases" Weed Res.,28,19-25
- GOODIN,J.R; CHANG,W.C. (1969)- "A new selective bioassay for Tordon in water" Down Earth 24:4,4-5.
- GORHAM,J; HARDY,C; WYN,R.G; JOPPA,L.R; LAW,C.N. (1987)- "Chromosomal location of K/Na discrimination character in the D-genome of wheat" Theor.Appl.Gent. 74,584-588.
- GOSTINCHAR,J; GUELL,F; PUJADAS,J; TORRES,J; MARTI,J. (1971)- "Ensayos con metoxuron en cereales de invierno en España" 1º Simposium Nacional de Herbicidas 1,131-134.
- GREEN,J.W. (1981)- "Variations in seed dormancy and rates of development of Great Brome *Bromus diandrus* roth., as adaptations to the climates of the Southern Australia and implications for weed control" Aust.J.Agric.Res., 36:295-304
- GREEN,R.N; SAVOUR,S.D; ROEBUCK,J; TRENERRY,J. (1977)- " Comparison of autumn and spring control of broad-leaves weeds in winter cereals"

MAFF, ADAS (Olantinh Road Wye) Ashford Kent, UK. 67-68.

GREGORY, R.S. (1987)- "Triticale breeding" In: Wheat breeding. Its Scientific Basis (F.G.H. Lupton. ed.) Chapman & Hall, Londres 566pp.

GRESSEL, J. (1986)- "Herbicide tolerance and resistance: alteration of site of activity" In: Weed Physiology Herbicide Physiology. CRC Press Inc Boca Raton II, 189-192.

GRIFFITHS, G.P; UMMEL, E. (1970)- " An evaluation of metoxuron for the control of *Alopecurus myosuroides* in cereals in the UK" Proc. 10th Br. Weed Control Conf. 77-83.

GROB, K.Jr. (1981)- "Evaluation of capillary gas chromatography for thermolabile phenylurea herbicides. Comparison of different columns including fused silica" Chrom., 13:543, 217-229.

GROGAN, C.O; EASTIN, E.F; PALMER, R.D. (1963)- "Inheritance of susceptibility of a line of maize to simazine and atrazine" Crop Sci., 3, 451-459.

GROSS, D; LAANIO, T; DUPUIS, G; ESSER, H.O. (1979)- " The metabolic behaviour of chlortoluron in wheat and soil" Pestic. Biochem. Physiol., 23, 212-220.

HARRADINE, A.R. (1986)- " Seed longevity and seedling establishment of *Bromus diandrus* Roth." Weed Res., 26:173-180

- HARRISON,H.F.J; JONES,A; DUKES,P.D. (1987)- "Heritability of metribuzin tolerance in sweet potatoes (*Ipomoea batatas*)" *Weed Sci.*, 35,715-719-
- HAVAUX,M; LANNOYE,R. (1985)- " In vivo chlorophyll fluorescence and delayed light emission as rapid screening techniques for stress tolerance in crop plants" *Z. Pflanzenzuchtg.* 95,1-13.
- HELBAEK,H. (1969) - "Plant collecting, dry farming and irrigation in prehistoric Deh Luran" In: Prehistory and Human Ecology of the Deh Luran Plain .(F.Hole ed.) Michigan, 383pp.
- HEWITT,E.J. (1963)- "Mineral nutrition of plant in soils and in culture media" In: A treatise of plant physiology. Academic Press, London, 120pp.
- HOGUE,J.E; WARREN,G.F. (1968)- "Selectivity of Linuron on tomato and parsnip" *Weed Sci.*, 8,51-54.
- INGLETT,G.E. (1974)- " Wheat in perspective" In: Wheat:Production and utilization AVI Publishing Co Westport, 1-7.
- ISLAM,A.K.M.R; POWLES,S.B. (1988)- "Inheritance of resistance to paraquat in barley grass *Hordeum glaucum* Stad." *Weed Res.*, 28,393-397.
- IZAWA,S; GOOD,N.E. (1965)- " The number of sites sensitive to 3-(3,4-dichlorophenyl)- 1,1-dimethylurea, 3-(4-chlorophenyl)-1,1-dimethylurea and 2-

chloro-4(2-propilamino)-6-ethylamino-s-triazine in isolated chloroplasts" *Bioche. Biophys. Acta*, 102,20-38.

JACOBSON, R.; ANDERSON, R.N. (1968)- "Differential response of wild oat lines to diallate, triallate and barban" *Weed Sci.*, 16,491-494.

KATZ, S.; RICHARD, F.S. (1969)- "Gas chromatographic separation of several urea herbicides and their metabolites" *J. Agric. Food Chem.*, 17:6,1409-1411.

KING, J.L. (1966)- "Weed of the World: Biology and Control" (Hill, L. ed.) Interscience Publishers IND., New York, 526pp.

KIRKWOOD, R.C. (1987)- "Herbicides and plant growth regulators" In: Herbicides: Progress in Pesticide Biochemistry and Toxicology (Hutson and Roberts eds.) John Wiley and Sons, New York, 372pp.

KORSMO, M. (1932)- "Over ugressets skadevirkninger og dets bekjempelse I. Akerbruket." Johnsen and Nielsens Boktrykkeri, Oslo 411pp.

LAGOS, E.; CARDENAS, J. (1970)- "Susceptibility of four sorghum varieties to different rates of atrazine, propazine and monuron" 2. Sem. de la Soc. Colombiana de Control de Malezas y Fisiología Vegetal (COMALFI) Bogotá, 70,8-15.

LANSAC, A.R.; GARCIA-BAUDIN, J.M. (1982)- "El Género *Lolium* como adventicia en Castilla-La Mancha" Colección: Estudios Agrarios Regionales 1,1-11.

- LANSAC,A.R; CADAHIA,E; GARCIA BAUDIN,J.M. (1984)- "Selectivity of *Euphorbia lathyris* L. to chlortoluron.Results from the accumulation of the herbicide in the leaves" *Chemosphere*,13,221-224.
- LAVERGUE,J. (1982)- "Mode of action of 3-(3,4-dichlorophenyl) 1-1 dimethylurea. Evidence that the inhibitor competes with plastoquinone for binding to a common site on the acceptor site of photosystem II" *Biochem.Biophys.Acta* 682,345-353.
- LAVOREL,J; ETIENNE,A.L (1977)- "In vivo chlorophyll fluorescence" In:Primary Processes of Photosynthesis (J.Barber ed.), Amsterdam.268pp.
- LAWRENCE,J.F; LAVER,G.W. (1975)- "Analysis of some carbamates and urea herbicides in foods by gas-liquid chromatography after alkylation" *J.Agric.Food Chem.* 23:6,1106-1109.
- LE BARON H.M; GRESSEL,J. (1982)- " Herbicide Resistance in Plants" John Wiley and Sons, New York.355pp.
- LEHOCZKI,E; LASKAY,G; PÖLÖS,E; MIKULAS,J. (1984)- "Resistance to triazine herbicides in Horseweed (*Conyza canadensis*)" *Weed Science* 32,669-674.
- LEROUX,B. (1982)- " Influence du chlortoluron sur quelques aspects de la biologie de plusieurs varietes de blè tendre en vue de mettre au point un test de sensibilitè a l'herbicide" D.E.A. Universidad de Paris. 160pp.

LIÑAN, C (1992)-" Vademecum de productos fitosanitarios y nutricionales." (Liñan, C. ed.) Madrid 539 pag.

LONGCHAMP,R; ROY,M; GAUTHERET,R.O. (1952)- " Sur les variations de la sensibilité des blés d'hiver a l'égard des hétéroauxines désherbantes au cours des diverses phases de leur évolution" C. R. Agr., Seance 30 Janvier .

LOPEZ BELLIDO,V (1991)- " Cultivos Herbaceos.Vol.I.Los Cereales" Ed.Mundi Prensa. Madrid.320pp.

LUPTON,F.G.H. (1974)- "Winter Wheat" Annual Report of the Plant Breeding Institute.74-77

LUPTON,F.G.H; OLIVER,R.H. (1981)- " Susceptibility of wheat cvs. to herbicides" Ann.Appl.Biol., 97 (Supplement tests of Agrochemicals and cultivars, 2) 52-53.

MALTAIS,B; BOUCHARD,C.J. (1978)- "Une moutande des oireausc (*Brassica napa* L.) resistente à l' atrazine" Phytoprotection 59,117-119.

MARSHALL,G.(1987)- "Implications of herbicide-tolerance cultivars and herbicide-resistant weeds for weed control managenement" Brithish Crop Protection Conference-Weeds 489-498.

MATHERNE,R.J; MILLHOLLOU,R.W. (1973)- " Tolerance of two sugarcane cultivars to Terbacil,Fenacil and Dalapon " Weed Sci., 21,139-141

- McKONE,C.E. (1969)- "The determination of some substituted urea herbicide residues in soil by electron-capture gas chromatography" J.Chromatog. 44,60-66
- MEIER,D; LICHTENTHALER,K.H; BURKARD,G. (1980)- " Change of chloroplast ultrastructure in radish seedling under the influence of the photosystem II-herbicide bentazon" Z.Naturforsch. 35c, 656-664.
- MELCAREK,P.K; BROWN,G.N (1977)- "The effects of chilling stress on the chlorophyl fluorescence of leaves" Plant Cell Physiol., 18,1099-1107.
- MISRA,J.K; RATHORE,R.K.S. (1988)- " Tolerance of wheats (Triticum species) to metoxuron" Indian Journal of Agricultural Sciences 58,3,219-222.
- MONA,S; DUCRUET,J.M; RAVANEL,P; TISSUT,M. (1991)- "Use of chlorophyll fluorescence to study the distribution of photosystem II inhibiting herbicides in leaves" In: Herbicides Resistance in Weeds and Crops Ed.Butterworth-Heinemann Ltd.454-455.
- MOORE,R.M. (1954)- "The Nature of Weeds" Pastoral Rev. 64,497-499.
- MORELAND,D.E.(1980)- "Mechanisms of action of herbicides" Ann.Rev.Plant Physiology 31,597-638.
- MORELAND,D.E.(1967)- "Mechanisms of action of herbicides" Ann.Rev.Plant Physiology, 18,365-386.

- MORETTINI,A. (1915)- "L'impiego dell'acido solforico per combattere le erbe infeste nel frumento" Staz.Sper.Agr.Ital., 48,693-716.
- MORRIS,S; SEARS,E.R. (1967)- "The Cytogenetics of wheat and its relatives" In: Wheat and Wheat improvement.(Quisenberry,K.S;Reitz,L.P. eds.) American Society of Agronomy, Wisconsin 560pp.
- MÜLLER,F; SANAD,A. (1975)- " Studies on the differential susceptibility of various wheat varieties to metoxuron" Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz Sonderheft 7,281-291.
- MÜLLER,F; FRAHN,J. (1980)- "Ursachen der empfindlichkeit verschiedener unkraüter gegen phenylharnstoff-herbizide" Med.Fac.Landbow.Rijksuniv.Gent,45,1017-1020.
- MUZIK,T.J. (1976)- "Influence of environmental factors on toxicity to plants" In: Herbicides, Physiology, Biochemistry Ecology.Academic Press, London. 2471pp.
- MYDLILOVA,E; ZEMANEK,J. (1975)- " The varietal sensitivity of winter wheat to herbicides" Ochrana Rostlin, 11,2,95-102.
- MYDLILOVA,E. (1984)- "The effects of herbicides on cultivars and feeding value of winter barley" Ochrana Rostlin, 20:1,51-59.
- NEURURER,H. (1975)- "Bioassays in weed research" Z.Pflántzenkr. Pflanzenschutz 82,316-328.

- OGIERMAN,L. (1985)- "Analysis of phenylurea herbicides by formation of methylated derivates in the gas-liquid chromatograph using trimethylanilinium hydroxide" Fresenius Z Anal.Chem. 320,365-368.
- OLIVEIRA,C.M.M; PALMA,M.R. (1976)- "A study of the efficacy and phytotoxicity of Dicuran 80 in wheat" Proceeding II Simposio National de Herbologia, Oeiras II,241-267.
- ONLEY,J.H; YIP,G; ALDRIDGE,M.H. (1968)- "A metabolic study of 3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea" J.Agric.Food Chem.16:3,426-433.
- PALLET,K.E.(1980)- "The mechanisms of activity and selectivity of the wild oat herbicides" Proceeding 1980 British Crop Protection Conferenc Weeds 3,843-854.
- PALLET,K.E; DODGE,A.D. (1980)- "Studies into the action of some photosynthetic inhibitor herbicides" J.Exp.Bot., 31, 1051-1066.
- PAPAGEORGIOU,G (1975)- " Chlorophyll fluorescence: A intrinsic probe of photosynthesis" In:Bioenergetics of Photosynthesis (Govindjee ed.) Academic Press, New York, 319-371.
- PARKER,C. (1965)- "A rapid bioassay method for the detection of herbicides which inhibit phtosynthesis" Weed Res., 5,181-184.

- PEEPER, T.F. (1984)- "Chemical and biological control of downy brome in wheat and alfalfa in North America" *Weed Sci.*, 32, 18-25.
- PETUNOVA, A.A. (1974)- " Biological bases of varietal resistance of cereal crops to herbicides" *Abstract Book 3rd International Congress of Pesticide Chemistry*. 174-181.
- PHILLIPS, W.M. (1959)- "Residual herbicidal activity of some chloro-substituted benzoic acids in soils" *Weeds* 7, 284-294.
- PONTE-FREITAS, A; HADDAD, G; TISSUT, M; RAVANEL, P. (1991)- "Distribution of isoproturon, a photosystem II inhibitor, inside wheat leaf fragments" *Plant Physiol. Biochem.* 29:1, 67-74.
- PRESTES, A.M; KONZAK, C.F; HENDRIX, J.W. (1975)- "An improved seedling culture method for screening wheat for tolerance to toxic levels of Al." *Agron. Abst.* 67, 60-68.
- QUARRIE, S.A. (1982)- "Genetic differences in abscisic acid physiology and their potential uses in agriculture" *In: Abscic Acid* (Addicott, F.T. ed), New York, 365-419.
- RABATE, E (1926)- "The use of sulfuric acid against weeds and certain crop parasites" *Internat. Rev. Sci. and Pract. Agr.* 4, 535-545.

RICHARD,E.P; GROSS,J.R; ARNTZEN,C.J; SLIFE,F.W. (1983)- " Determination of herbicide inhibition of photosynthetic electron transport by fluorescence" Weed Sci., 31,361-367.

ROBBINS,W.W; CRAFTS,A.S; RAYNOR,R.N. (1955)- "Destruccion de malas hierbas" Unión Tipográfica Editorial Hispano Americana, Mexico 531pp.

ROCHAIX,J.D; DRON,M; RAHIRE,M; MALNOE,P.(1984)- " Sequence homology between the 32K dalton and the D2 chloroplast membrane polypeptide" Plant Molecular Biology 3,363-370.

ROTH,W. (1957)- "Etude comparée de la reaction du mais et du blé a la simazine, substance herbicide" C.R. Acad.Sci. 245,942-944.

RUSSEL,G.E. (1968)- " La sélection pour la tolérance au desherbant pyrazone chez la betterave sucrière." II R.B. 31^e Congr. Hiver, 77-83.

RYAN,P.J; OWEN,W.J. (1982) "The mechanism of selectivity of chlortoluron between cereals and grassweeds" Proceeding British Crop Protection Conference-Weeds 1,317-324.

SANCHEZ-MONGE,E. (1974)- "Fitogenética" Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias MAPA.Colección:Monografias INIA nº12

SANTELMANN,P.W. (1977)- "Herbicide Bioassay" In: Research Methods in Weed Science_. (Truelove ed.) Southern Weed Science Society, New York, 80-87.

- SAWICKI,R.M. (1987)- " Definition,detection and documentation of insecticide resistance" In: Combating Resistance to Xenobiotics (M.G. Ford D.W. Holloman B.P.S. Khambay,and R.M.Sawicki eds.) Weinheim. 105-107.
- SCHREIBER,U; FINK,R; VIDAVER,W (1977)- " Fluorescence induction in whole leaves: Differntiation between the leaf sides and adaptation to different light regimes" *Planta* 133,121-129.
- SCHREIBER,U; VIDAVER,W; RUNECKLES,V; ROSEN,P (1979)- " Chlorophyll fluorescence assay for ozone injury in intact plants" *Plant Physiol.*, 61, 80-84.
- SCOTT,K.R; PUTWAIN,P.D.(1981)- "Maternal inheritance of simazine resistance in a population of *Senecio vulgaris*" *Weed Res.*, 21,137-140-
- SCOTT,G.E; GROGAN,C.O. (1969)- "Location of a gene in maize conditioning susceptibility to atrazine" *Crop Sci.*, 9,669-675.
- SHAW,W (1956)- "Terminology Committee Report Weed Society of America" *Weeds* 4,278-356.
- SHAW,D.R; PEPPER,T.F; NOFZIGER,D.L. (1985)- "Comparison of chlorophyll fluorescence and fresh weight as herbicide bioassay techniques" *Weed Sci.*, 33,29-33.

SHEETS,T.J.(1959)- "The comparative toxicities of monuron and simazine in soil"
Weeds 7,189-194.

SIXTO,H; GARCIA-BAUDIN,J.M; CADAHIA,E. (1984)- "Tolerance de *Bromus diandrus* Roth envers differents herbicides antigraminées" 3rd Symp. on Weed Problems in the Mediterranean area.Portugal,2, 567-571

SIXTO,H;GARCIA-BAUDIN,J.M. (1988)- "Diferentes respuestas a los herbicidas clortolurón e isoproturón de tres cultivares de trigo blando" Investigación Agraria:Producción y Protección Vegetal 3:2,243-253

SMITH,J.M; TYSON,D. (1970)- " N'-(3-chloro-4-methylphenyl)-NN dimethylurea, a new residual and contac herbicide for control of annual grass and broad-leaved weeds in cereals" Proc.10th.Br.Weed Control Conf. 72-76.

SMITH,A.E; LORD,K.A. (1975)- "Method for determining trace quantities of the herbicide chlortoluron in soils by liquid chromatography" J.Chromatog.107,407-410.

SNAPE,J.W; ANGUS,W,J; PARKER,B.B; LECKIE,D. (1987)- "The chromosomal locations in wheat of genes conferring differential responses to the wild oat herbicide,difenzoquat" J.Agric.Sci. 108,543-548.

SNAPE,J.W; PARKER,B.B. (1988)- "Chemical response polymorphisms:an additional

source of genetic markers in wheat" Proceedings Seventh International Wheat Genetics Symposium.(T.E Miller and R.D. Koebner,eds) Cambridge, 651-656.

SOKAL,R.R; ROHLF,F.J. (1981)- "Biometry" 2nd.Ed.W.H.Freeman and Cia.,New York. 839pp.

SOLER,J. (1971)- " Resultados obtenidos con el metoxuron en el sur de España en la lucha contra *Avena ssp* en trigo y cebada de otoño" 1º Simposium Nacional de Herbicidas T.1,122-130.

SOLYMOSI,P. (1981)- "Inheritance of herbicide resistance in *Amaranthus retroflexus*" Novenytermeles 30,57-61.

SOUZA-MACHADO,V; BANDEEN,J.D (1977)- "Cross polination and F₁ segregation of atrazine tolerant and susceptible biotypes of lame's-quartes" Res.Rep.Can.Weed Comm.East.Sect (Fredericton,New Brumside) 305-310.

SOUZA-MACHADO,V; BANDEEN,J.D; STEPHENSON,G.R; LAVIGNE,D. (1978)- "Uniparental inheritance of chloroplast atrazine tolerance in *Brassica campestris* L." Cann.J.Plant Sci., 58,977-981.

SOUZA-MACHADO,V; PHATAK,S.C; WONECHE,I.L. (1982)- "Inheritance of

tolerance of tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill.) to metribuzin herbicide" *Euphytica* 31,129-138.

STAFFORD,R.E; COMSTOCK,V.E; FORD,J.H. (1968)- "Inheritance of tolerance in flax (*Linum usitatissimum* L.) treated with MCPA" *Crop Sci.* 8:4,423-426.

STANOVA,A; GAHER,S; JENIK,V. (1979)- " Herbicides based on chlortoluron in cereals" *Agochemia* 19,12,371-376.

STREIBIG,J.C. (1988)- "Herbicide bioassay" *Weed Res.*, 28,479-484.

TADEO,J.L; GARCIA-BAUDIN,J.M; MATIENZO,T; PEREZ,S; SIXTO,H. (1989)- "Chlortoluron levels and selectivity in wheat cultivars" *Chemosphere* 18,1673-1679.

THIEDE,H. (1975)- " The effect of soil acting herbicides on individual cereal species and varieties" *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten and Pflanzenschutz* 7,273-279.

TOTTMAN, D.R. (1987)- " The decimal code for the growth stages of cereals with illustrations" *Ann.appl.Biolog.* 110,441-454.

TOTTMAN,D.R.; HOLROY,D.J; LUPTON,F.G.H; OLIVER,R.H; BARNES,T.R.; TYSOE,R.H. (1975)- "The tolerance to isoproturon by varieties of winter wheat" *Proceeding of European Weed Research Society Symposium Status and Control of Grass Weeds in Europe*, 360-368.

TREEST,A; DRABER,W. (1978)- "Structure activity correlations of recent herbicides in photosynthetic reaction" *Advances in Pest.Sci.*, 2,223-234.

TREEST,A (1991)- " The molecular basis of resistance of photosystem II herbicides"In:Herbicides Resistance in Weeds and Crops Ed. Butterworth-Heinemann, 145-164.

TRUELOVE,B; DAVIS,D.E; JONES,L.R. (1974)- "A new method for detecting photosynthesis inhibitors" *Weed Sci.*, 22,15-17.

TUTIN,T.G; HEYWOOD,V.H; BURGESS,N.A; MOORE,D.M; VALENTINE,D.H; WALTERS,S.M; WEBB,D.A.(Eds.) (1980)- "Flora Europaea". Cambridge University Press. Vol.5:118-267.

UPCHURCH,R.P; MASON,D.D (1962)- "The influence of soil organic matter on the phytotoxicity of herbicides" *Weeds* 10,9-14.

VAN HIELE,F.J; HOMMES,A; VERVELDE,G.F. (1970)- " Cultivar differences in herbicide tolerance and their exploitation" *Proc. 10th Br.Weed Control Conf.* 111-117.

VAN LEEWEN,P.H; VAN OORSCHOT,J.L.P: (1976)- "Effects of some phenylurea herbicides on photosynthesis of two wheat varieties" *Weed Res.*, 16,11-14.

VAN OORSCHOT,J.L.P. (1970)- " Effect of transpiration rate of bean plants on

inhibition of photosynthesis by some root-applied herbicides" *Weed Res.*,10,230-242.

VAN OORSCHOT,,J.L.P; VAN LEEUWEN,P.H. (1974)- " Photosynthetic inhibition in *Phaseolus vulgaris*. II The influence of light on herbicidal action" *Weed Res.*, 14,81-86.

VAN OORSCHOT,J.L.P. (1970)- "Influence of herbicides on photosynthetic activity and transpiration rate of intact plants" *Pestic.Sci.* 1,33-37.

VAN RENSEN,J.J.S.(1982)- " Molecular mechanisms of herbicides action near photosystem II" *Physiol.Plant* 54,515-521.

VELTHUYS,B.R. (1981)- "Electron-dependence competition between plastoquinone and inhibitors for binding to photosystem II" *FEBS Lett.*, 126,277-282.

WARKENTIN,T.D; MARSHALL,G; MORRISON,I.N. (1988)- "The inheritance of diclofop-methyl tolerance in cultivated oats (*Avena sativa L.*)" *Proc.EWRS Symp.* 355-360.

WELLS,M.J; STIRTON,C.H. (1982)- "South Afric" In: Biology and Ecology of weeds (Holzner,W;Numata,M. eds.), 339-343.

WIEBE,G.A; HAYES,J.D. (1960)- "The role of genetics in the use of agricultural chemicals" *Agron.J.* 52,685-686.

WIESE,A.F; QUINBY,J.R. (1969)- "Inheritance of 2,4D and propazine resistance in grain sorghum" Abstr.Meet Weed Sci.Soc.Am., 29,56-62.

WITT,H.T. (1971)- " Coupling of quanta,electrons, fields, ions and phosphorylation in the functional membrane of photosynthesis" Rev.Biophys.4,365-477.

WORTHING,C.R; PHIL,M.A.D.(Eds.) (1987)- "The Pesticide Manual. A World Compendium." British Crop Protection Council, 1081pp.

ZANKEL,K.L; KOK,B. (1972)- "Estimation of pool sizes and kinetic constants" In Methods of Enzymology. (San Pietro ed.) Academic Press, New York, 24,218-238.

ZURAWSKY,G; BOHNERT,H.J; WHITFELD,P.R; BOTTOMLEY ,W. (1982)- "Nucleotide sequence of the gene for the 32,000 thylakoid membrane debueyi product of Mr 38950" Proc. Natl.Acad.Sci.USA 79,7699-7703

ANEXO 1:

Relación de cultivares de trigo, cebada y triticales utilizados.

A) Cultivares procedentes de *Triticum turgidum* L.var.*durum*. Desf.

MEXA
ROQUEÑO
ESQUILACHE
VITRON
CIBELES
JILOCA
TEJON
SAFARI
OSCAR
PARAMO
NITA
BIDI
CAMACHO
JABATO

B) Cultivares procedentes de *Tríticum aestivum* L.

CASTAN
ANZA
MARIUS
RECITAL
IMPETO
YECORA
MAESTRO
SEVILLANO
RINCONADA

ANEXO 1: (Cont.)

C) Cultivares procedentes de *Hordeum vulgare* L.

PALLAS
BEKA
ALPHA
TRAIT UNION
PRIVER
KORU
KYM
FTTAMARA
UNION
HASSAN
LOGRA
CLARET
IRANIS
MENUET
GEORGIE
FLAVIA
ALBACETE
HATIF DE GRIGNON
BARBARROSA
ALSEKAL
MONLON
BEGOÑA
PLAISANT
VEGAL
DACIL
TABAIBA
TECLA
TINA
AURORA

D) Triticales *Triticum x Secale*

CAMARMA	BADIEL
TOROTE	JUANILLO
TAJUÑA	

ANEXO 2

Descripción del herbicida Clortolurón.¹

Formulación:

N^o-(3-cloro-4-metilfenil)N,N-dimetilurea (CA)
3-(3-cloro-p-tolyl)-1,1-dimetilurea (IUPAC)

Propiedades:

Clortolurón puro es un polvo sin color; punto de fusión 147-148°C; presión de vapor 0.017 mPa (20°); densidad 1.40 gr/cu.cm (20°); solubilidad en agua a 20°C, 70 mg/l. en acetona 5%, en etilacetato 2%, en benzeno 2.4%. No es corrosivo.

Toxicología:

Aguda oral en ratas LD₅₀>10.000 mg tec./kg.
Aguda cutánea en ratas LD₅₀>2.000 mg/kg.
Baja toxicidad para pájaros y nula para abejas.

Precauciones:

Se siguen las recomendaciones generales para cualquier producto químico de baja toxicidad.

Modo de acción:

Inhibidor de fotosíntesis. Absorción radicular y foliar.

Usos:

Se utiliza en pre y post emergencia para el control de anuales mono y dicotiledoneas en cultivos de trigo y cebada.

Nombres comerciales:

Dicurán, Toluréx, Deltarol y Clortokem.

¹Tomado de "The Pesticide Manual" (1987)

ANEXO 3

Descripción del herbicida Isoproturón.²

Formulación:

N,N-dimetil-N'-[4-(1-metiletil)fenil] urea (CA)
3-(4-isopropilfenil)-1,1-dimetilurea (IUPAC)

Propiedades:

Isoproturón es un polvo cristalino sin color; punto de fusión 151-153°C; presión de vapor 3.15×10^{-4} mbar a 77°C; densidad 1.16 gr/cu.cm. (20°); solubilidad en agua a 20°C, 70mg/l. Facilmente soluble en disolventes orgánicos comunes.

Toxicología:

Aguda oral en ratas $LD_{50} > 1826$ mg/kg.
Aguda dermal en ratas $LD_{50} > 2.000$ mg/kg.
Toxicidad nula para abejas y moderada para peces.

Precauciones:

Se siguen las recomendaciones generales para cualquier producto químico.

Modo de acción:

Inhibidor de fotosíntesis. Absorción radicular y foliar.

Usos:

Se utiliza en pre- y postemergencia para el control de anuales mono y dicotiledoneas en cereales.

Nombres comerciales:

Graminón, Arelón y Tolkán.

²Tomado de "The Pesticide Manual" (1987)

ANEXO 4

Descripción del herbicida Metoxurón.³

Formulación:

N'-(3.cloro-4-metoxifenil)-N,N-dimetilurea (CA)
3-(3-cloro-4 metoxifenil)-1,1-dimetilurea (IUPAC)

Propiedades:

Metoxurón es un polvo cristalino sin color; punto de fusión 126-127°C; presión de vapor 4.2×10^{-8} mbar a 20°C; solubilidad en agua a 24°C, 678 mg/l. Soluble en acetona, ciclohexanona, acetonitrilo y alcohol caliente. Moderadamente soluble en etre, benceno y tolueno.

Toxicología:

Aguda oral en ratas $LD_{50} > 3200$ mg/kg
Aguda dermal en ratas $LD_{50} > 2000$ mg/kg
Practicamente atóxico para pájaros. Baja toxicidad para peces.

Precauciones:

Se siguen las recomendaciones generales para cualquier producto químico.

Modo de acción:

Inhibidor de la fotosíntesis. Absorción radicular y foliar.

Usos:

Se utilizan en pre- y postemergencia para el control de anuales mono y dicotiledóneas en cereales y zanahoria.

Nombres comerciales:

Dosanex, Deftor, Sulerex, Dosaflo y Piruvel.

³Tomado del libro "The Pesticide Manual" (1987)

ANEXO 5

Solución nutritiva utilizada.⁴

MACROELEMENTOS (g/1000l)

Na H ₂ PO ₄ ·H ₂ O	208
Mg SO ₄	369
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	1180
K NO ₃	505

COMPOSICION IONICA (meq/l)

NO ₃ ⁻	15
H ₂ PO ₄ ⁻	1,3
SO ₄ ²⁻	3
K ⁺	5
Ca ²⁺	10
Mg ²⁺	3
Na ⁺	1,3

OLIGOELEMENTOS (1ml/10l de una solución conteniendo:)

NH ₄ MoO ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	0,5 g/l
H ₃ BO ₃	15 g/l
Mn SO ₄ ·H ₂ O	15,4 g/l
Cu SO ₄ ·H ₂ O	2,5 g/l
Zn SO ₄ ·5H ₂ O	6,25 g/l
Fe ₂ (SO ₄) ₃	23,8 g/l
E.D.T.A.	34,41 g/l

⁴Según Hewitt (1963)